



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

VITÓRIA KAROLINE FÉLIX MONTEIRO

**ANÁLISE COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE
METILMERCÚRIO E AS ISOFORMAS DA APOLIPOPROTEÍNA E**

FORTALEZA

2025

VITÓRIA KAROLINE FÉLIX MONTEIRO

ANÁLISE COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE
METILMERCÚRIO E AS ISOFORMAS DA APOLIPOPROTEÍNA E

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Barreto Oriá.

Coorientador: Prof. Dr. Norberto de Kássio Vieira Monteiro.

FORTALEZA
2025

VITÓRIA KAROLINE FÉLIX MONTEIRO

ANÁLISE COMPUTACIONAL DA INTERAÇÃO ENTRE
METILMERCÚRIO E ISOFORMAS DA APOLIPOPROTEÍNA E

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas da
Faculdade de Medicina da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre. Área de
concentração: Biomedicina.

Aprovada em ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Reinaldo Barreto Oriá
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Norberto de Kássio Vieira Monteiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ámison Rick Lopes da Silva
Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF)

A Deus.

A minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

À CAPES, pelo apoio financeiro por meio da bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Ceará, pela formação acadêmica e pela estrutura disponibilizada.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Reinaldo Barreto Oriá**, por me receber em seu laboratório, pela excelente orientação e pelo tempo investido em mim e nesta pesquisa.

Ao meu coorientador, **Prof. Dr. Norberto de Kássio Vieira Monteiro**, por me receber no Grupo de Química Teórica (GQT), pela orientação essencial para a construção deste estudo, pela colaboração, generosidade e disponibilidade.

Aos membros do Laboratório Labicone, **Mayara, Caroline e Camila**, pela amizade e parceria nos projetos e artigos científicos. Aos colegas pesquisadores do GQT que colaboraram comigo neste e em outros trabalhos: **Osmar e Marcus**.

A todos os professores, tanto do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas quanto do Centro Universitário Unichristus, por contribuírem para minha formação profissional e pessoal. Em especial, à **Prof.^a Dra. Richele Janaina de Araújo Machado**, pela orientação durante a graduação e pelo impacto positivo no meu crescimento acadêmico e profissional.

À coordenação e à secretaria do curso, pelo apoio constante.

À minha família – minha mãe **Maria Félix** e minhas irmãs **Milena e Livia** – por acreditarem em mim, por serem meu alicerce nos dias mais difíceis e a razão das minhas conquistas.

Ao meu marido, **Marlon Sombra**, por estar ao meu lado em todos os momentos, por acreditar em mim desde a inscrição no processo seletivo, e por me apoiar e me incentivar a ser sempre a minha melhor versão.

Agradeço, por fim, a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para que eu chegasse até aqui, ainda que não tenham sido mencionados nominalmente.

A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo (Albert Einstein).

RESUMO

O metilmercúrio (MeHg) é um dos poluentes ambientais mais tóxicos, acumulando-se no sistema nervoso central (SNC) e no sistema cardiovascular, onde promove estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e inflamação. Evidências epidemiológicas sugerem que a variabilidade genética, em especial as diferentes isoformas da Apolipoproteína E (ApoE), influencia a susceptibilidade individual à toxicidade mercurial. A isoforma ApoE4 tem sido associada a maior vulnerabilidade clínica, embora os mecanismos estruturais dessa associação permaneçam pouco esclarecidos.

O presente estudo teve como objetivo investigar, por meio de métodos computacionais, potenciais interações entre o CH₃Hg e as isoformas da ApoE. Para isso, foram realizadas otimizações de geometria e cálculos semiempíricos com o *software* MOPAC, além da análise *Independent Gradient Model* (aIGM) para caracterização inicial das interações. Adicionalmente, empregou-se o método do *Reduced Density Gradient* (RDG), implementado no *software* Multiwfn, para avaliar de forma comparativa os perfis de interações não-covalentes (NCI) das isoformas da ApoE, na ausência e presença do CH₃Hg.

Os resultados mostraram que as isoformas ApoE2 e ApoE3 apresentaram maior estabilidade ao interagir com o MeHg, enquanto a ApoE4 se mostrou menos estável. As análises RDG reforçaram esses achados, evidenciando que a presença de resíduos de cisteína favorece interações atrativas com o CH₃Hg, ao passo que sua ausência em ApoE4 resulta em menor afinidade.

Assim, os achados deste trabalho reforçam hipóteses clínicas e epidemiológicas de que portadores do alelo ε4 são mais suscetíveis à toxicidade do MeHg, por não apresentarem interações protetoras estáveis com o metal. O estudo fornece uma base para compreender como variações estruturais da ApoE modulam a susceptibilidade individual, destacando a proteína como um biomarcador genético relevante em populações cronicamente expostas ao mercúrio.

Palavras-chave: Metilmercúrio; Apolipoproteína E; Isoformas; Modelagem computacional; Toxicidade; Biomarcador genético.

ABSTRACT

Methylmercury (MeHg) is one of the most toxic environmental pollutants, accumulating in the central nervous system (CNS) and cardiovascular system, where it promotes oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammation. Epidemiological evidence suggests that genetic variability, particularly the different isoforms of Apolipoprotein E (ApoE), influences individual susceptibility to mercury toxicity. The ApoE4 isoform has been associated with greater clinical vulnerability, although the structural mechanisms of this association remain unclear.

This study aimed to investigate, using computational methods, potential interactions between CH₃Hg and ApoE isoforms. To this end, geometry optimizations and semiempirical calculations were performed with MOPAC software, in addition to Independent Gradient Model (aIGM) analysis for initial characterization of the interactions. Additionally, the Reduced Density Gradient (RDG) method, implemented in the Multiwfn software, was used to comparatively evaluate the non-covalent interaction (NCI) profiles of ApoE isoforms in the absence and presence of CH₃Hg.

The results showed that the ApoE2 and ApoE3 isoforms exhibited greater stability when interacting with MeHg, while ApoE4 was less stable. RDG analyses reinforced these findings, demonstrating that the presence of cysteine residues favors attractive interactions with CH₃Hg, while their absence in ApoE4 results in lower affinity.

Thus, the findings of this study reinforce clinical and epidemiological hypotheses that carriers of the ε4 allele are more susceptible to MeHg toxicity because they lack stable protective interactions with the metal. The study provides a basis for understanding how structural variations in ApoE modulate individual susceptibility, highlighting the protein as a relevant genetic biomarker in populations chronically exposed to mercury.

Keywords: Methylmercury; Apolipoprotein E; Isoforms; Computational modeling; Toxicity; Genetic biomarker.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Biotransformação e biomagnificação do MeHg. _____	15
Figura 2: Esquema do MeHg atravessando a BHE com destaque para o LAT1. _____	19
Figura 3: Diferenciação das isoformas da ApoE. _____	21
Figura 4: Estrutura das proteínas ApoE humanas. _____	22
Figura 5: Esquema ilustrativo da isoforma ApoE4 com capacidade de ligação reduzida com o MeHg. _____	28
Figura 6: Fluxograma do passo a passo da metodologia. _____	32
Figura 7: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys112 com o CH ₃ Hg. _____	38
Figura 8: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys158 com o CH ₃ Hg. _____	40
Figura 9: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE3 com o CH ₃ Hg. _____	42
Figura 10: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE4 com o CH ₃ Hg. _____	43
Figura 11: Análise da interação entre APOE2-Cys112 e MeHg. _____	45
Figura 12: Análise da interação entre APOE2-Cys158 e MeHg. _____	46
Figura 13: Análise da interação entre APOE3 e MeHg. _____	47
Figura 14: Análise da interação entre APOE4 e MeHg. _____	48
Figura 15: Esquema conceitual: Interações do CH ₃ Hg com isoformas da ApoE. _____	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre as isoformas da Apolipoproteína E (ApoE) ____ 19

Tabela 2 – Valores de energia de interação dos conjuntos ApoE–CH₃Hg, ApoE + CH₃Hg e da interação entre os dois componentes _____ 30

Tabela 3 – Principais estudos envolvendo ApoE e Metilmercúrio _____ 47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Hg	Mercúrio
OMS	Organização Mundial da Saúde
MeHg	Metilmercúrio
LAT	Transportadores de Aminoácidos Neutros
BHE	Barreira Hematoencefálica
SNC	Sistema Nervoso Central
SNPs	Polimorfismos de Nucleotídeo Único
ApoE	Apolipoproteína E
ApoE2	Apolipoproteína E isoforma 2
ApoE3	Apolipoproteína E isoforma 3
ApoE4	Apolipoproteína E isoforma 4
-SH	Grupos Sulfidrila
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
LAT1	Transportador 1 de Aminoácidos de Cadeia Longa
IL-6	Interleucina-6
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
LDLr	Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
DA	Doença de Alzheimer
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
VMD	<i>Visual Molecular Dynamics</i>
MOPAC	<i>Molecular Orbital Package</i>
aIGM	Modelo de Gradiente Independente Médio
CYS	Cisteína
ARG	Arginina
RDG	Gradiente de Densidade Eletrônica Reduzido
NCIs	Interações Não Covalentes
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
kDa	Quilodalton
ϵ	Épsilon
%	Porcentagem
β	Beta
<i>aat</i>	Gene SERPINA1
Å	Ångström
®	Marca Registrada
Δ	Delta
Kcal	Quilocaloria
λ	Lambda
S	Enxofre
O	Oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
Figura 1: Biotransformação e biomagnificação do MeHg.	16
1.1 Metilmercúrio e seus mecanismos de toxicidade	18
Figura 2: Esquema do MeHg atravessando a BHE com destaque para o LAT1.	19
1.2 Apolipoproteína E: função e isoformas	20
Figura 3: Diferenciação das isoformas da ApoE.	21
Tabela 1 – Comparação entre as isoformas da Apolipoproteína E (ApoE)	22
Figura 4: Estrutura das proteínas ApoE humanas.	23
1.3 Associação entre ApoE e intoxicação por metilmercúrio	25
1.4 Mecanismos estruturais e bioquímicos da interação MeHg-ApoE	28
Figura 5: Esquema ilustrativo da isoforma ApoE4 com capacidade de ligação reduzida com o MeHg.	28
2 JUSTIFICATIVA	30
3 OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo geral	31
3.2 Objetivos específicos	31
4 METODOLOGIA	32
4.1 Materiais	32
• Softwares:	32
Figura 6: Fluxograma do passo a passo da metodologia.	32
4.2 Obtenção das estruturas moleculares	33
4.3 Construção e otimização do metilmercúrio	33
4.4 Determinação da entalpia de interação	33
4.5 Avaliação das interações interatômicas por meio do Modelo de Gradiente Independente Médio	34
4.6 Análise das interações por meio do método RDG	34
5 RESULTADOS	36
5.1 Energia de interação	36
Tabela 2 – Valores de energia de interação dos conjuntos ApoE-CH ₃ Hg, ApoE + CH ₃ Hg e da interação entre os dois componentes	36
5.2 Interações interatômicas	37
Figura 7: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys112 com o CH ₃ Hg.	38
Figura 8: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys158 com o CH ₃ Hg.	40

Figura 9: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE3 com o CH ₃ Hg.	42
Figura 10: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE4 com o CH ₃ Hg.	43
5.3 Gráficos de RDG das interações entre os sistemas	45
Figura 11: Análise da interação entre APOE2-Cys112 e MeHg.	45
Figura 12: Análise da interação entre APOE2-Cys158 e MeHg.	46
Figura 13: Análise da interação entre APOE3 e MeHg.	47
Figura 14: Análise da interação entre APOE4 e MeHg.	48
6 DISCUSSÃO	49
Figura 15: Esquema conceitual: Interações do CH ₃ Hg com isoformas da ApoE.	49
Tabela 3 – Principais estudos envolvendo ApoE e Metilmercúrio	52
7 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO EM REVISTA CIENTÍFICA	68
ANEXO B - CAPÍTULO DE LIVRO ACEITO E EM PROCESSO DE PUBLICAÇÃO	69
ANEXO C - ARTIGO SUBMETIDO EM REVISTA CIENTÍFICA E EM FASE DE REVISÃO	70

1 INTRODUÇÃO

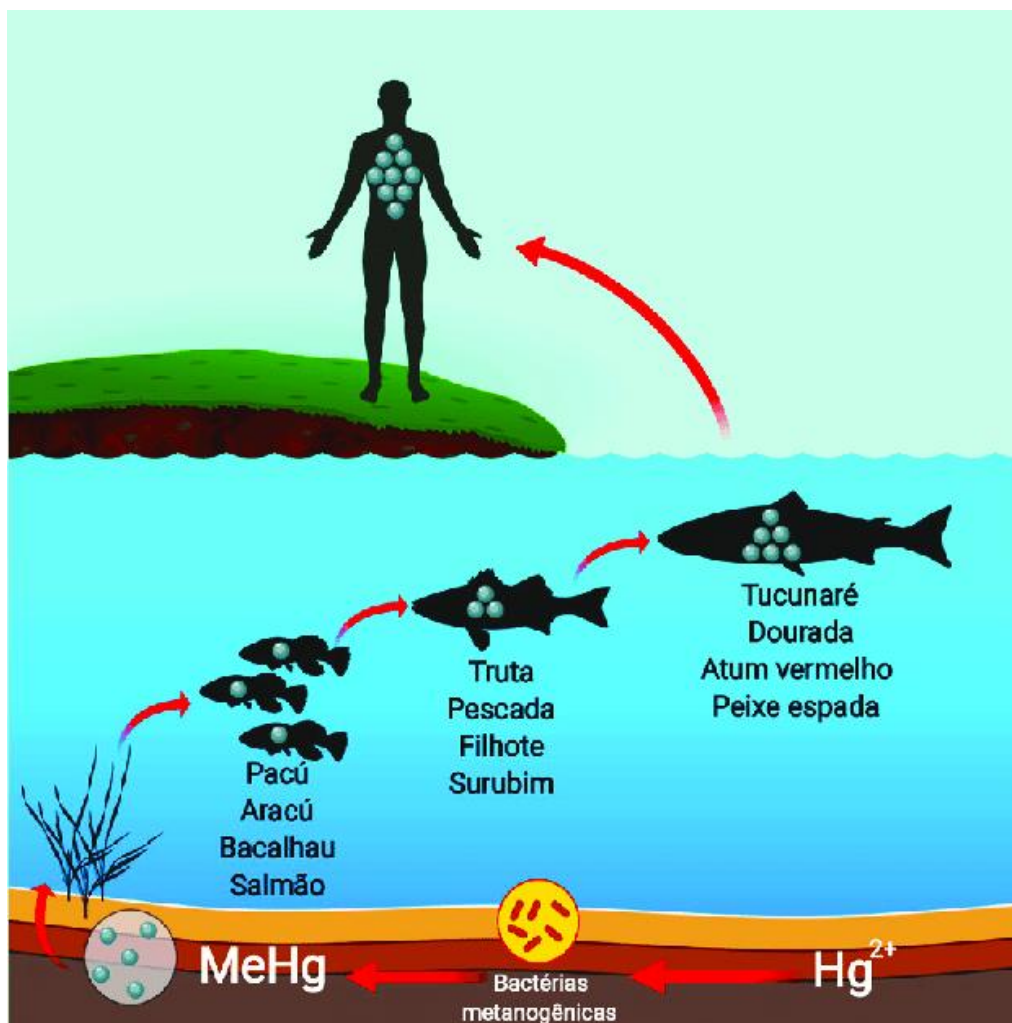
O mercúrio (Hg) é classificado como uma das principais substâncias químicas de maior impacto para a saúde, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Gibb et al., 2015). Embora seja um elemento natural amplamente distribuído no ambiente, atividades humanas em larga escala têm aumentado de forma significativa sua liberação na atmosfera, ampliando a exposição crônica de populações que vivem em áreas de risco (Berzas Nevado et al., 2010; Crespo-López et al., 2009a). Um exemplo disto, foi o incidente em Minamata, no Japão, onde a má utilização de resíduos industriais levou à contaminação por metilmercúrio (MeHg), representando uma tragédia ambiental e de saúde pública. Esse episódio resultou na criação da Convenção de Minamata, cujo objetivo é reduzir as emissões de Hg. Apesar disso, projeções indicam que até 2050 essas emissões devem aumentar globalmente (Rafaj et al., 2013), resultando em exposição humana prolongada e efeitos adversos à saúde (Evers et al., 2016; Streets et al., 2019).

A exposição ao Hg pode ocorrer de diferentes formas químicas: elementar (Hg^0), oxidada (Hg^+ , Hg^{2+}) ou orgânica, como o MeHg, que variam em toxicocinética e toxicodinâmica. Seus efeitos adversos à saúde têm sido observados de forma consistente em humanos e/ou animais expostos, variando de acordo com a dose e o tempo de exposição (Clarkson; Magos, 2006; Yang et al., 2020).

Concentrações elevadas de mercúrio no ambiente podem resultar da degradação do solo, intensificada por atividades humanas como desmatamento, agricultura e mineração de ouro, além da emissão atmosférica do Hg elementar (Berzas Nevado et al., 2010; Clarkson; Magos, 2006a). O mercúrio, então, deposita-se nos sistemas aquáticos, sendo parcialmente convertido em MeHg por bactérias metanogênicas através de biotransformação. O MeHg é assimilado na cadeia trófica por meio da biomagnificação, caracterizada pelo aumento progressivo da concentração de substâncias químicas ao longo dos níveis tróficos (Gochfeld, 2003). Assim, a ingestão de pescado contaminado torna-se a principal via de exposição humana ao MeHg, principalmente em populações nas quais o pescado representa um papel central na composição alimentar (Crespo-López et al., 2009a; Pinheiro et al., 2007). Os processos centrais de biotransformação e bio magnificação estão na

descritos na **Figura 1**, ilustrado pelo ciclo do Hg nos ecossistemas aquáticos de como ocorre a biotransformação e a biomagnificação do MeHg.

Figura 1: Biotransformação e biomagnificação do MeHg.



Fonte: Adaptado de Crespo-López et. al., 2021.

Biotransformação e biomagnificação do mercúrio na Amazônia. O mercúrio inorgânico (Hg^{2+}) é transformado por bactérias metanogênicas em MeHg e é introduzido na cadeia alimentar por sua capacidade de atravessar as barreiras celulares. O MeHg entra na cadeia alimentar aquática, inicialmente absorvido por organismos menores, como fitoplâncton e pequenos peixes, vai se acumulando e aumentando de concentração a cada nível da cadeia trófica até chegar ao ser humano.

O MeHg se destaca como o organomercurial de maior toxicidade, devido à sua alta capacidade de atravessar membranas biológicas, elevada lipossolubilidade e lenta excreção (Berzas Nevado et al., 2010; Clarkson; Magos, 2006a; Crespo-López et al., 2005). Além disso, enquanto as formas inorgânicas de mercúrio dependem de transportadores específicos para atravessar a membrana lipídica, o MeHg difunde-se

mais facilmente, aumentando seu potencial de toxicidade (Silva-Pereira et al., 2005). Um dos mecanismos associados à sua mobilidade é a formação do complexo MeHg-cisteína, estruturalmente semelhante a metionina. Esse complexo é reconhecido por transportadores de aminoácidos neutros (LAT), facilitando sua passagem pela barreira hematoencefálica (BHE) e pela placenta (Clarkson; Vyas; Ballatori, 2007a; Mori et al., 2012).

Assim, os principais efeitos adversos em humanos resultam do consumo de frutos do mar e grandes peixes predadores contaminados (Clarkson; Magos, 2006b). Isso ocorre porque tais espécies acumulam altos níveis de MeHg em virtude da bioacumulação e da posição que ocupam na cadeia alimentar (Ward; Nislow; Folt, 2010). Populações que consomem peixe regularmente podem ser cronicamente expostas aos limites de segurança para concentração de Hg (10 µg/g de cabelo) estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (World Health Organization., 1990). No entanto, vale destacar que esse limite foi definido com base em episódios agudos de intoxicação, como os registrados em Minamata. Estudos mais recentes têm demonstrado que exposições contínuas a concentrações relativamente baixas de metilmercúrio, mesmo abaixo dos valores de referência da OMS, podem ocasionar efeitos adversos adicionais a longo prazo (Crespo-Lopez et al., 2016).

A exposição crônica ao mercúrio está associada ao seu acúmulo no sistema nervoso central (SNC), desencadeando manifestações neurológicas como tremores, alterações de comportamento, déficit de memória, irritabilidade, insônia, neuropatias e perda auditiva (Crespo-Lopez et al., 2023; Santos-Sacramento et al., 2021). Além das implicações neurológicas, estudos recentes indicam que a toxicidade mercurial de longo prazo também pode afetar outros sistemas, como o cardiovascular, contribuindo para o surgimento de condições prejudiciais, entre elas hipertensão arterial e síndrome metabólica (Arrifano et al., 2021; Lopes-Araújo et al., 2023).

Diante desse cenário, estratégias de saúde pública devem priorizar medidas preventivas e a identificação precoce de grupos vulneráveis (Crespo-Lopez et al., 2023). Abordagens genéticas, como a investigação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), permitem identificar variantes alélicas associadas a maior susceptibilidade à toxicidade mercurial, fornecendo subsídios para ações preventivas mais direcionadas (Andreoli; Sprovieri, 2017; Llop; Ballester; Broberg, 2015).

Na última década, alguns estudos sugeriram que diferentes isoformas da Apolipoproteína E (ApoE, para a proteína; APOE, para o gene) poderiam influenciar

a vulnerabilidade individual aos efeitos do mercúrio. Em especial, a isoforma ApoE4 tem sido associada a maior intensidade dos efeitos tóxicos decorrentes da exposição (Godfrey; Wojcik; Krone, 2003a; Ng et al., 2013, 2015; Snoj Tratnik et al., 2017; Woods et al., 2014; Wojcik et al., 2006). Portanto, o presente estudo busca investigar a influência das isoformas da ApoE na susceptibilidade à intoxicação por mercúrio, explorando os mecanismos moleculares envolvidos por meio de ferramentas computacionais

1.1 Metilmercúrio e seus mecanismos de toxicidade

O primeiro grande surto de intoxicação mercurial ocorreu em 1956, na cidade de Minamata, Japão, e, desde então, os efeitos da toxicidade do mercúrio em humanos têm sido objeto de extensas pesquisas (Li; Feng; Qiu, 2010). Apesar desse acontecimento ter motivado ações para a redução das emissões de Hg, o uso disseminado do metal persiste, sendo a mineração de ouro em pequena escala (garimpos) uma importante fonte de emissões, principalmente na Região Amazônica (Kumar et al., 2023; Sundseth et al., 2017).

Para a maior parte da população, a via oral representa a principal forma de exposição ao mercúrio, sendo a parede gastrointestinal a porta de entrada desse elemento tóxico na corrente sanguínea. Cerca de 95% do MeHg ingerido é absorvido no sistema gastrintestinal, promovendo sua distribuição e acumulação nos órgãos-alvo. Considerando a sua natureza tóxica, o acúmulo de MeHg no intestino pode afetar sua estrutura e importantes funções, como digestão, absorção e função de barreira protetora (Vázquez; Vélez; Devesa, 2014).

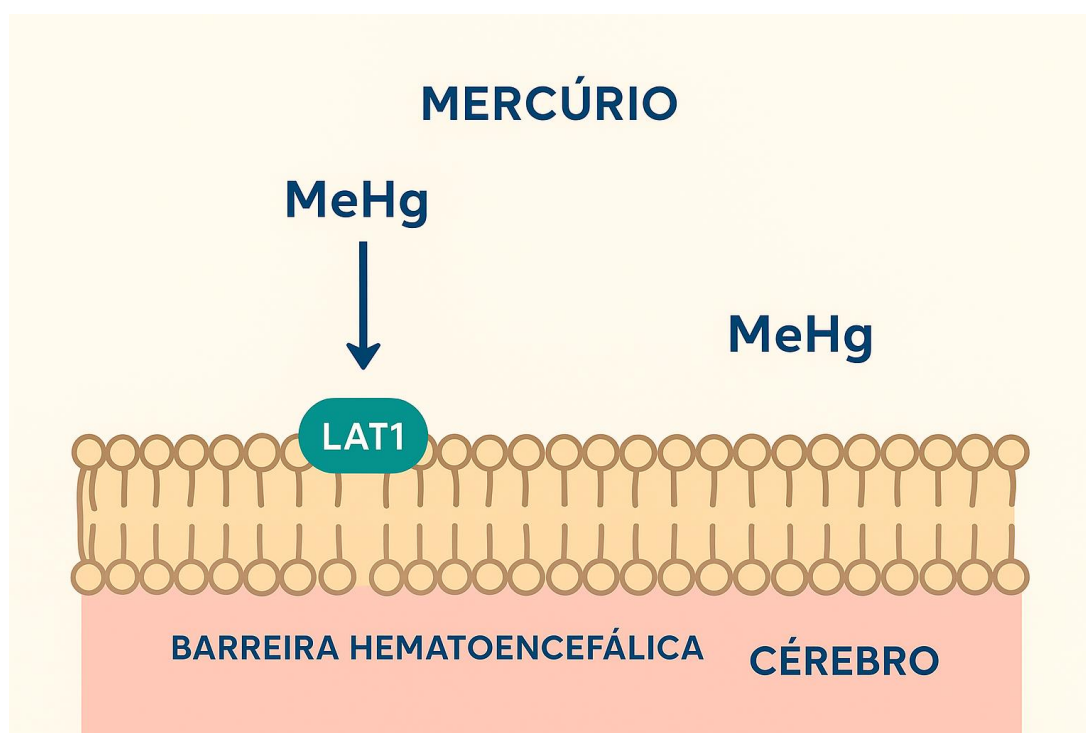
Após a absorção, o MeHg adere a grupos sulfidríla (-SH), especialmente da cisteína, permanecendo em circulação por cerca de 30 a 40 horas (Farina; Rocha; Aschner, 2011; Guzzi; La Porta, 2008). Esses grupos, também chamados de tióis ou mercaptanos, são essenciais para a função de diversas proteínas (Nordberg; Nordberg; Costa, 2022). Em muitos estudos, a alta afinidade dos compostos MeHg pelos grupos SH foi relatada, sendo até maior em comparação com a afinidade demonstrada por outros metais pesados, como o cádmio (Cd), o arsênio (As) e o chumbo (Pb) (Bjørklund et al., 2017; Mutter; Naumann; Guethlin, 2007).

Moléculas com grupos SH estão presentes em peptídeos e proteínas em todo o organismo humano e são vitais para suas funções estruturais (Brandes; Schmitt;

Jakob, 2009). Dessa forma, a ligação do MeHg a resíduos de cisteína pode alterar a estrutura proteica, levando à disfunção mitocondrial e ao aumento do estresse oxidativo, por meio da produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Farina; Aschner; Rocha, 2011; Unoki et al., 2018).

Além disso, no organismo, o MeHg é encontrado principalmente na forma de complexos hidrossolúveis ligados a átomos de enxofre de ligantes tióis (Guzzi; La Porta, 2008). O MeHg associa-se à L-cisteína, formando o complexo MeHg-Cys, que é reconhecido e transportado pelo Transportador 1 de Aminoácidos de Cadeia Longa (LAT1). Esse mecanismo facilita a transposição da BHE, promovendo a entrada de MeHg no cérebro (Farina; Rocha; Aschner, 2011b) o que torna o SNC vulnerável à sua toxicidade (**Figura 2**). A intoxicação por MeHg atinge, preferencialmente, regiões específicas do cérebro, como o cerebelo, os lobos temporais e o córtex visual (Antunes dos Santos et al., 2016; Crespo-López et al., 2009a).

Figura 2: Esquema do MeHg atravessando a BHE com destaque para o LAT1.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

O MeHg em circulação no organismo normalmente se encontra ligado a aminoácidos sulfurados (como a L-cisteína), formando o complexo MeHg-Cys, que mimetiza a metionina e consegue atravessar a BHE via transportador LAT1.

O LAT1, responsável pelo transporte do MeHg através das membranas, é expresso em diversos tipos celulares do sistema nervoso, incluindo os neurônios. Estudos *in vitro* demonstraram que a superexpressão de LAT1 aumenta a captação de MeHg pelas células, enquanto sua inibição reduz a absorção e a citotoxicidade do MeHg (Yin et al., 2008). Além disso, o estresse oxidativo induzido pelo MeHg é um dos principais mediadores de sua toxicidade em células neuronais (Antunes dos Santos et al., 2018; Ceccatelli; Daré; Moors, 2010). Em modelos experimentais de intoxicação, observam-se níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Chang, 2011; Kim; Johnson; Sharma, 2003), associadas a disfunção mitocondrial, aumento do estresse oxidativo e dano tecidual, agravando o quadro de neurotoxicidade (Takahashi; Shimohata, 2019).

Além dos efeitos no SNC, o MeHg também pode causar efeitos tóxicos no sistema cardiovascular. Embora os mecanismos subjacentes não estejam completamente elucidados, sabe-se que a exposição ao MeHg induz tanto uma diminuição na atividade antioxidante quanto um aumento no estresse oxidativo, resultando em inflamação e disfunção endotelial (Haybar Et Al., 2019; Takahashi; Shimohata, 2019). As células endoteliais são suscetíveis ao estresse oxidativo, que, quando exacerbado pelo MeHg, provoca disfunção endotelial. Esse efeito pode levar ao desenvolvimento de aterosclerose, trombose e processos inflamatórios (Omanwar; Fahim, 2015; Wiggers et al., 2016).

No entanto, é fundamental destacar que a toxicidade do MeHg é influenciada pela via de exposição, quantidade de contato e a susceptibilidade individual (Hong; Kim; Lee, 2012). Dessa forma, além dos estudos sobre os efeitos da exposição ao mercúrio, os esforços recentes têm se concentrado na busca por biomarcadores que indicam o dano causado pela intoxicação e a susceptibilidade dos indivíduos. Este último aspecto é particularmente relevante para a discussão e melhoria de ações preventivas, como também para identificar aqueles com maior risco que necessitam de monitoramento adequado. Dentre os fatores genéticos que podem modular a toxicidade do MeHg, destaca-se a ApoE, tema explorado a seguir.

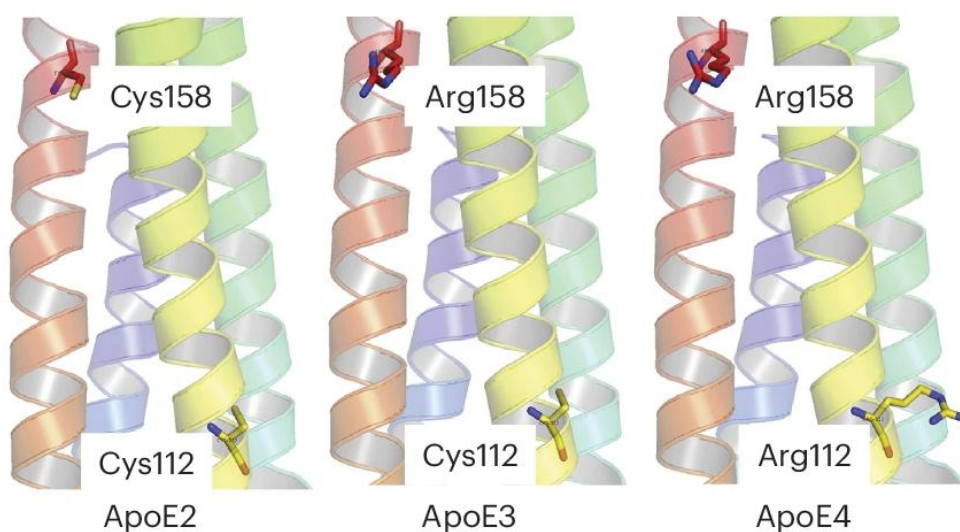
1.2 Apolipoproteína E: função e isoformas

Nos últimos anos, a ApoE tem sido apontada como um fator genético de susceptibilidade à intoxicação por mercúrio (Ng et al., 2013, 2015; Woods et al., 2014). Codificada pelo gene *APOE*, a ApoE é composta por 299 aminoácidos, possui peso molecular de 34 kDa e desempenha papel essencial na regulação do metabolismo lipídico no plasma e nos tecidos (Huang; Mahley, 2014).

Em humanos, existem três principais isoformas de ApoE, codificadas pelos alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. Globalmente, o alelo $\epsilon 3$ é o mais prevalente, presente em aproximadamente 79% da população, seguido pelo alelo $\epsilon 4$ com frequência de 13,5%, enquanto o alelo $\epsilon 2$ é o menos comum, com uma frequência de 7,3%. Na América do Sul, observa-se um padrão semelhante, com predomínio do alelo $\epsilon 3$ (76,7%). No entanto, há um aumento na frequência do alelo $\epsilon 4$, que atinge 18,7%, e uma diminuição na frequência do alelo $\epsilon 2$, reduzida para 4,6% (Singh; Singh; Mastana, 2006).

As isoformas da ApoE diferem pelas combinações de aminoácidos nas posições 112 e 158. A isoforma ApoE3 apresenta cisteína na posição 112 e arginina na posição 158, enquanto a ApoE2 possui cisteína em ambas as posições e a ApoE4 possui apenas arginina (**Figura 3**). Essas substituições impactam diretamente a estrutura conformacional da proteína, suas propriedades de ligação e suas funções metabólicas, estando associadas a diferentes riscos para doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Husain; Laurent; Plourde, 2021a; Raulin et al., 2022; Wu; Zhang; Zhao, 2018).

Figura 3: Diferenciação das isoformas da ApoE.



Fonte: Adaptado de Narasimhan et. al., 2024.

As substituições de aminoácidos entre as isoformas da ApoE são mostradas na estrutura tridimensional.

A **Tabela 1**, a seguir, resume as principais diferenças estruturais, funcionais e clínicas entre as isoformas ApoE2, ApoE3 e ApoE4.

Tabela 1 – Comparação entre as isoformas da Apolipoproteína E (ApoE)

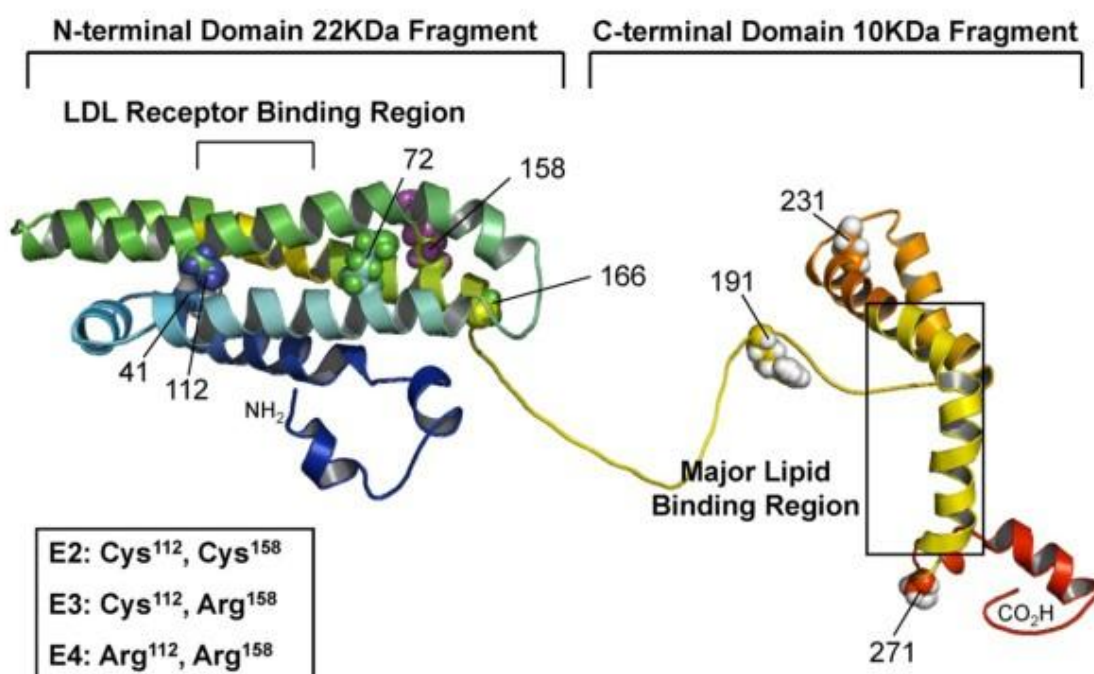
Característica	ApoE2	ApoE3	ApoE4
Resíduo na posição 112	Cisteína	Cisteína	Arginina
Resíduo na posição 158	Cisteína	Arginina	Arginina
Afinidade pelo receptor LDL	Baixa	Intermediária	Alta
Estabilidade estrutural	Elevada	Elevada	Reduzida
Função antioxidante	Alta	Intermediária	Baixa
Efeitos inflamatórios	Anti-inflamatório	Neutro	Pró-inflamatório
Associação com Alzheimer	Neuroprotetora	Neutra	Alto risco
Associação com doenças cardiovasculares	Menor risco	Intermediário	Maior risco
Distribuição na população mundial	~7,3%	~79%	~13,5%
Distribuição na América do Sul	~4,6%	~76,7%	~18,7%
Ligação com MeHg (hipotética)	Alta (presença de -SH)	Moderada (presença de -SH)	Potencialmente baixa (ausência de -SH)

Fonte: Adaptado de Mahley & Huang (2012); Husain et al. (2021); Zhong & Weisgraber (2009); Frieden & Garai (2012); Singh et al. (2006); Xu et al. (2014); Ajsuvakova et al. (2020).

A estrutura da ApoE é composta por dois domínios funcionais principais, localizados em extremidades opostas da molécula. O domínio N-terminal, que abrange os resíduos 136 - 150, apresenta um arranjo de quatro hélices em feixe alongado, configurando-se como a principal região de interação com o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR). Já o domínio C-terminal, correspondente aos resíduos 244 - 272, caracteriza-se por uma conformação altamente helicoidal, sendo a principal região responsável pela ligação a lipídios (Hatters; Peters-Libeu; Weisgraber, 2006). Esses domínios são conectados por uma região de dobradiça

flexível localizada entre os resíduos 166 e 205, que influencia a interação conformacional entre as regiões N- e C-terminais (**Figura 4**) (Zhang et al., 2007).

Figura 4: Estrutura das proteínas ApoE humanas.



Fonte: Adaptado de Hsieh e Chou 2011.

Estrutura modelo ilustrando a apoE completa com domínios NT e CT. Os sítios polimórficos (resíduos 112 e 158) que distinguem as três isoformas estão destacados.

Nos seres humanos, o fígado é responsável por cerca de 75% da produção de ApoE, resultando em concentrações plasmáticas que variam entre aproximadamente 40 e 70 mg/ml. O cérebro ocupa o segundo lugar em termos de síntese dessa apolipoproteína, sendo os astrócitos as principais células envolvidas em sua produção. Além disso, o tecido cerebral concentra cerca de 25% de todo o colesterol presente no organismo, sendo, portanto, o órgão com a maior quantidade dessa substância. Nesse contexto, a ApoE se destaca como a apolipoproteína predominante no cérebro (Mahley; Weisgraber; Huang, 2009).

Polimorfismos genéticos da ApoE modulam tanto sua conformação estrutural quanto suas propriedades funcionais, influenciando a afinidade da proteína pelos receptores lipoproteicos, o que pode impactar processos fisiológicos. Essas diferenças afetam a susceptibilidade a doenças, particularmente cardiovasculares e

neurodegenerativas (Zhong; Weisgraber, 2009). O alelo $\epsilon 4$, por exemplo, está fortemente correlacionado a concentrações elevadas de colesterol associado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de densidade muito baixa (VLDL), efeito atribuído à menor afinidade dessa isoforma pelo receptor LDLR. Indivíduos homozigotos para o alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon 4/\epsilon 4$) apresentam um perfil lipídico aterogênico, com maior predisposição à hipercolesterolemia e ao desenvolvimento de aterosclerose e estão correlacionados a um risco significativamente aumentado de eventos cardiovasculares. Em contraste, indivíduos portadores do alelo $\epsilon 3$ tendem a apresentar um perfil metabólico intermediário, caracterizado por maior estabilidade nos níveis lipídicos e menor susceptibilidade ao desenvolvimento de dislipidemias (Frieden; Garai, 2012).

No contexto das doenças neurodegenerativas, a ApoE exerce um papel fundamental no SNC, atuando no transporte de lipídios e influenciando diretamente a homeostase neuronal, bem como os mecanismos de reparo tecidual. O alelo $\epsilon 4$ é considerado o principal fator genético de risco para a doença de Alzheimer (DA) esporádica de início tardio, por aumentar de forma significativa a probabilidade de desenvolvimento da patologia (Zhong; Weisgraber, 2009). O alelo $\epsilon 4$ está relacionado a uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento da DA, como também a um início mais precoce dos sintomas e a uma progressão acelerada do declínio cognitivo. Em contrapartida, o alelo $\epsilon 2$ é frequentemente descrito como neuroprotetor, exercendo efeitos opostos aos observados com a presença do alelo $\epsilon 4$ (Husain; Laurent; Plourde, 2021b; Neu et al., 2017).

Além da doença de Alzheimer, variações na ApoE também influenciam a fisiopatologia de outras doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson. Nesses casos, a presença do alelo $\epsilon 4$ tem sido associada a prognósticos mais desfavoráveis, embora haja variações em função da etnia e de características genéticas específicas (Sun et al., 2019). A distribuição das variantes alélicas da ApoE apresenta considerável variação entre diferentes populações humanas, sendo moldada por contextos históricos específicos e fatores ambientais (Dhana et al., 2021). Essas diferenças genéticas, quando analisadas em conjunto com influências ambientais e mecanismos epigenéticos, reforçam a importância de estratégias personalizadas na investigação das interações entre as variantes da ApoE e a suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças (Fox, 2018).

No entanto, a etiologia de diversos distúrbios neurodegenerativos ainda não está completamente elucidada. Nesse contexto, o papel de fatores ambientais como potenciais contribuintes para o risco dessas condições tem sido reconhecido e ganhado relevância nas pesquisas atuais. Exposições a metais pesados tem sido reconhecida como um potencial fator etiológico em diversas doenças neurodegenerativas. Dentre esses metais, o mercúrio, alumínio, cádmio e arsênio têm sido amplamente investigados no contexto da DA, especialmente devido à sua capacidade de promover a deposição do peptídeo beta-amiloide (A β) e induzir modificações patológicas na proteína tau (Morris et al., 2016a; Xu; Finkelstein; Adlard, 2014b).

Além disso, a ApoE é o único fator de risco genético confirmado para o desenvolvimento da DA (Xu; Finkelstein; Adlard, 2014b) e demonstra correlações epidemiológicas com os efeitos tóxicos da exposição a metais (Birdsall et al., 2010; Palir et al., 2023). Assim, potenciais interações gene-ambiente parecem influenciar a toxicocinética e/ou toxicodinâmica do MeHg. Dessa maneira, estudos vêm demonstrando que a ApoE é um importante modulador genético da susceptibilidade à toxicidade por mercúrio, revelando uma associação significativa entre as isoformas da ApoE e a variabilidade individual na resposta tóxica. Indivíduos que possuem uma ou duas cópias do alelo ϵ 4 do gene APOE demonstram maior predisposição a danos neurotóxicos induzidos pela exposição ao MeHg (Godfrey; Wojcik; Krone, 2003b; Wojcik et al., 2006).

1.3 Associação entre ApoE e intoxicação por metilmercúrio

O mercúrio é um metal pesado com elevado potencial tóxico, reconhecido por causar danos significativos aos sistemas biológicos, especialmente ao SNC e ao sistema cardiovascular (Clarkson; Magos; Myers, 2003; Crespo-López et al., 2005; Houston, 2011). Dentre os mediadores moleculares envolvidos na resposta do organismo à exposição ao mercúrio, a ApoE destaca-se como um elemento essencial, influenciando a forma como o corpo responde ao MeHg. Com funções fundamentais no transporte de lipídios, na manutenção da homeostase neuronal e na regulação de processos inflamatórios, a ApoE constitui uma peça-chave para elucidar os mecanismos de toxicidade do mercúrio e as diferenças individuais na susceptibilidade à sua intoxicação (Arrifano et al., 2018; Crespo-Lopez, 2018). Assim, a interação entre

o MeHg e a ApoE exerce influência relevante sobre a toxicocinética, a toxicodinâmica e os efeitos neurológicos e cardiovasculares associados à exposição ao metal.

A toxicocinética do mercúrio abrange os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, os quais podem ser modulados pela ação da ApoE. Como mencionado anteriormente, o MeHg é eficientemente absorvido no trato gastrointestinal e forma complexos com grupos sulfidríla de proteínas, como os resíduos de cisteína. O complexo MeHg-cisteína apresenta semelhança estrutural com a metionina, o que permite seu transporte por aminoácidos neutros, como o LAT1, facilitando sua travessia pela BHE e consequente acúmulo no SNC (Farina; Rocha; Aschner, 2011b). Estudos experimentais reforçam a relevância desses transportadores na mediação da toxicidade do MeHg. Em modelo com *Caenorhabditis elegans*, observou-se que o pré-tratamento com L-metionina foi capaz de inibir de forma eficaz a toxicidade induzida pelo MeHg, sugerindo uma competição pelo uso de transportadores específicos. Além disso, a deleção dos genes *aat-1*, *aat-2* e *aat-3*, homólogos vermiformes do transportador LAT1 humano, resultou em aumento significativo da sobrevivência dos organismos expostos ao MeHg, bem como em uma expressiva redução no acúmulo do metal nos tecidos (Caito; Zhang; Aschner, 2013).

Modelos experimentais também indicam que a ApoE exerce influência significativa sobre a permeabilidade da BHE e a integridade da microvasculatura cerebral. Evidências sugerem que indivíduos ou animais que expressam a isoforma ApoE4 apresentam maior comprometimento da função da BHE, o que pode favorecer a entrada de mercúrio no tecido cerebral e, consequentemente, potencializar seus efeitos neurotóxicos (Kirchner et al., 2023; Yamazaki et al., 2020).

No que diz respeito à toxicodinâmica, os efeitos tóxicos do MeHg estão intimamente associados ao seu impacto em processos celulares essenciais, como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, resposta inflamatória e a neurotoxicidade. O mercúrio promove estresse oxidativo por meio da formação de complexos com glutatona e outros componentes do sistema antioxidante, reduzindo as defesas celulares. A ApoE, por sua vez, desempenha um papel modulador importante nesses mecanismos, variando conforme a isoforma expressa. Entre elas, a ApoE4 apresenta menor capacidade de modulação do estresse oxidativo em comparação às isoformas ApoE2 e ApoE3. Estudos *in vitro* indicam que neurônios e células gliais derivadas de camundongos transgênicos portadores da isoforma ApoE4 exibem maior

sensibilidade à toxicidade induzida pelo mercúrio, reflexo de sua capacidade antioxidante reduzida (Morris et al., 2016b; Paduraru et al., 2022).

Além disso, o mercúrio estimula a ativação da microglia e a liberação de citocinas pró-inflamatórias, intensificando a neuroinflamação. A ApoE, especialmente na isoforma ApoE4, modula essa resposta, sendo associada a um perfil mais pró-inflamatório. Estudos mostram que indivíduos com ApoE4 apresentam maior expressão de citocinas inflamatórias após exposição ao mercúrio (Gasmi et al., 2022a; Vitek; Brown; Colton, 2009). Neurônios com ApoE4 também demonstram maior disfunção mitocondrial frente à exposição ao mercúrio, devido à menor capacidade de reparo celular e ao transporte de lipídios menos eficiente, em comparação às isoformas ApoE2 e ApoE3 (Snoj Tratnik et al., 2017b).

Estudos observacionais também sugerem que indivíduos com o alelo $\epsilon 4$ apresentam maior vulnerabilidade aos efeitos tóxicos do mercúrio (Godfrey; Wojcik; Krone, 2003b). Populações ribeirinhas da Amazônia, expostas cronicamente ao MeHg por meio do consumo de peixe contaminado, têm sido amplamente investigadas quanto aos efeitos neurotóxicos e cardiovasculares dessa exposição. Nessas comunidades, os portadores da ApoE4 tendem a apresentar níveis mais elevados de mercúrio no sangue e no cabelo, além de relatarem sintomas neurológicos mais frequentes, como tremores, fadiga e déficits cognitivos, em comparação com indivíduos com os genótipos ApoE2 ou ApoE3. Tais manifestações clínicas podem estar relacionadas à menor capacidade da ApoE4 em preservar a integridade da BHE e em neutralizar o estresse oxidativo (Arrifano et al., 2018). De maneira semelhante, trabalhadores expostos ao mercúrio em indústrias de cloro-álcalis ou em atividades de mineração de ouro demonstram uma associação entre a presença do alelo $\epsilon 4$ e maior incidência de sintomas neurológicos e cardiovasculares. Evidências dessas populações sugerem que a ApoE4 potencializa os efeitos tóxicos do mercúrio ao favorecer processos inflamatórios sistêmicos e aumentar a predisposição à disfunção endotelial (Taux; Kraus; Kaifie, 2022).

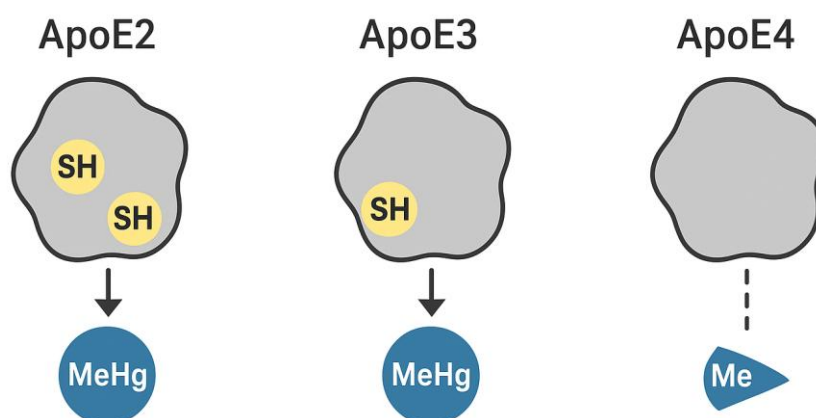
Em síntese, os dados experimentais indicam que a ApoE4 está associada a alterações na integridade da BHE, além de maior estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação. Esses fatores em conjunto contribuem para um quadro mais grave de neurotoxicidade induzida pelo MeHg. Estudos observacionais em populações expostas reforçam esses achados, evidenciando a associação entre ApoE4 e o agravamento de sintomas neurológicos e cardiovasculares. Nesse

contexto, compreender os mecanismos estruturais da interação entre o MeHg e as diferentes isoformas da ApoE é fundamental para elucidar as bases moleculares da susceptibilidade diferencial observada em estudos experimentais e populacionais.

1.4 Mecanismos estruturais e bioquímicos da interação MeHg-ApoE

As diferentes isoformas da ApoE apresentam variações estruturais que afetam não apenas sua função biológica, mas também seu potencial de interação com compostos tóxicos, como MeHg. As substituições nos resíduos 112 e 158, cisteína na ApoE2 e E3 e arginina na ApoE4, impactam diretamente a exposição de grupos SH, os quais desempenham papel central na formação de complexos com o MeHg (**Figura 5**) (Mahley; Huang, 2012; Husain; Laurent; Plourde, 2021a).

Figura 5: Esquema ilustrativo da isoforma ApoE4 com capacidade de ligação reduzida com o MeHg.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Substituições nos resíduos 112 e 158 impactam a exposição de grupos -SH. O MeHg demonstra alta afinidade por resíduos de cisteína e, por isso, devido a ausência desses resíduos na ApoE4, essa isoforma teria capacidade reduzida de interação com o MeHg.

O MeHg apresenta alta afinidade por resíduos de cisteína, formando complexos do tipo MeHg-Cys com estabilidade significativa. Essas ligações mimetizam a estrutura da metionina e permitem que o MeHg atravesse barreiras biológicas via transportadores de aminoácidos, como o LAT1. Considerando a presença de resíduos de cisteína nas isoformas ApoE2 e ApoE3, e sua substituição

por arginina na ApoE4, é possível que a capacidade de ligação ao MeHg seja diferenciada entre essas isoformas, com potenciais repercussões na toxicocinética e nos efeitos biológicos observados (Ajsuvakova et al., 2020; Clarkson; Vyas; Ballatori, 2007b; Farina; Rocha; Aschner, 2011a).

Estudos *in vitro* demonstraram que íons de mercúrio podem se ligar a ApoE com afinidades similares entre as isoformas, mas promovem alterações conformacionais mais intensas na ApoE4, sugerindo maior instabilidade estrutural frente à presença do metal. Essas mudanças podem comprometer a funcionalidade da proteína, afetando seu papel no transporte lipídico, na proteção antioxidante e na manutenção da integridade da barreira hematoencefálica (Berntsson et al., 2022).

Tais evidências reforçam a hipótese de que a interação direta entre MeHg e ApoE pode representar um mecanismo ativo de modulação da toxicidade. As alterações conformacionais provocadas pela ligação ao MeHg podem modificar a interação da ApoE com receptores celulares, sua afinidade por lipídios ou sua distribuição nos tecidos. Essas mudanças, por sua vez, podem contribuir para a intensificação da neurotoxicidade e da inflamação observadas em portadores do alelo $\epsilon 4$, especialmente em cenários de exposição ambiental ao mercúrio (Crespo-Lopez, 2018; Xu; Finkelstein; Adlard, 2014b).

A caracterização dessas interações, por meio de abordagens computacionais, representa uma estratégia promissora para investigar, em nível molecular, a estabilidade, afinidade e localização dos complexos formados entre MeHg e as isoformas da ApoE. Essa análise pode contribuir para o entendimento dos determinantes moleculares que modulam a susceptibilidade individual à toxicidade do MeHg.

2 JUSTIFICATIVA

O MeHg é reconhecido como um dos poluentes ambientais mais tóxicos e persistentes, capaz de atravessar barreiras biológicas e se acumular em tecidos-alvo, como o SNC e o sistema cardiovascular (Clarkson; Magos, 2006; Crespo-López et al., 2009). Apesar dos avanços no entendimento de seus mecanismos de toxicidade, a variabilidade individual na resposta à exposição ainda permanece pouco compreendida. Evidências recentes apontam que fatores genéticos, especialmente polimorfismos no gene *APOE*, desempenham papel relevante na modulação dos efeitos tóxicos do MeHg, podendo influenciar tanto a toxicocinética quanto a toxicodinâmica deste metal (Arrifano et al., 2018; Ng et al., 2015).

Entre as isoformas da ApoE, a presença do alelo $\epsilon 4$ tem sido associada a maior vulnerabilidade a danos neurológicos e cardiovasculares induzidos pelo MeHg (Godfrey; Wojcik; Krone, 2003; Snoj Tratnik et al., 2017). Apesar dos avanços, os mecanismos moleculares que explicam essa relação permanecem pouco esclarecidos, especialmente no que se refere à interação estrutural entre o metal e a proteína. Isso dificulta o entendimento de como cada isoforma da ApoE pode modular a susceptibilidade individual à intoxicação por MeHg.

Nesse contexto, abordagens computacionais, representam ferramentas promissoras para avaliar, em nível atômico, as possíveis interações entre o MeHg e as diferentes isoformas da ApoE. Essas técnicas permitem identificar sítios de ligação, estimar afinidades e prever alterações conformacionais resultantes da interação fornecendo hipóteses úteis para orientar investigações experimentais em etapas posteriores (Berntsson et al., 2022).

Assim, este estudo se justifica pela relevância científica e social de compreender como variações genéticas na ApoE podem influenciar a resposta tóxica ao MeHg, contribuindo para a elucidação de mecanismos de susceptibilidade e para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e monitoramento direcionadas a populações vulneráveis, especialmente aquelas com alta exposição decorrente de hábitos alimentares ou condições ambientais específicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar, por meio de métodos computacionais semiempíricos, a interação entre o MeHg e as diferentes isoformas da ApoE, avaliando potenciais diferenças estruturais e energéticas associadas à susceptibilidade individual à toxicidade.

3.2 Objetivos específicos

1. Modelar as estruturas tridimensionais das isoformas ApoE2, ApoE3 e ApoE4.
2. Calcular, por meio do programa MOPAC, a entalpia de formação dos complexos formados entre cada isoforma e o MeHg.
3. Identificar e caracterizar o tipo de interação estabelecida entre o MeHg e os resíduos das diferentes isoformas da ApoE.

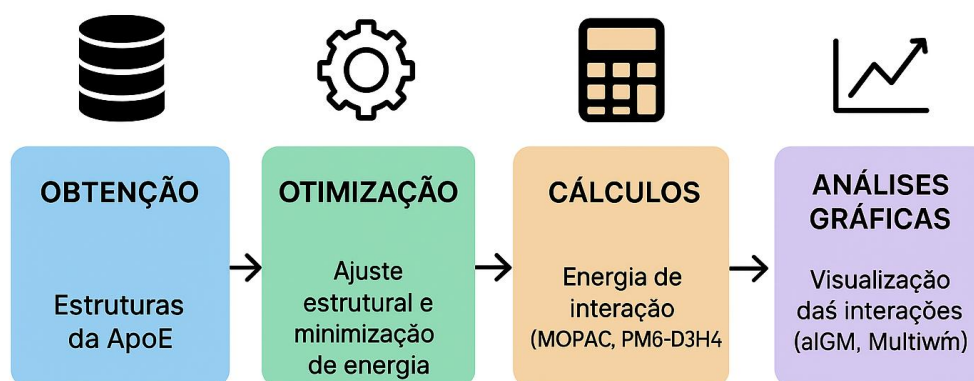
4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

- **Banco de dados:** Protein Data Bank (PDB), entrada 2L7B (Chen; Li; Wang, 2011).
- **Softwares:**
 - UCSF Chimera v.1.18 (Pettersen et al., 2004) – modelagem das isoformas.
 - Avogadro (Hanwell et al., 2012) – construção da molécula de CH₃Hg.
 - Gaussian 09 (Frisch et al., 1984) – otimização do ligante via DFT.
 - Visual Molecular Dynamics – VMD (Humphrey; Dalke; Schulten, 1996) – cortes estruturais e visualização.
 - MOPAC v.22.1.1 (Stewart, 2016) – cálculos de entalpia de interação.
 - Multiwfn v.3.8 (Lu, 2024; Lu; Chen, 2012) – análises pelo modelo aIGM e RDG.

Trata-se de um estudo *in silico*, baseado em métodos de modelagem molecular. E de forma geral, este trabalho foi organizado em quatro etapas principais: obtenção das estruturas, otimização dos modelos, realização dos cálculos e, por fim, as análises gráficas e comparativas (**Figura 6**).

Figura 6: Fluxograma do passo a passo da metodologia.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.2 Obtenção das estruturas moleculares

As estruturas tridimensionais das proteínas foram obtidas a partir da estrutura principal da isoforma ApoE3 por meio do repositório *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>), a qual é identificada como 2L7B (CHEN; LI; WANG, 2011). As isoformas ApoE2 e ApoE4 foram geradas por substituições pontuais de resíduos utilizando o software Chimera v.1.18 (PETTERSEN ET AL., 2004). As estruturas modificadas foram inspecionadas e submetidas a minimização de energia inicial.

Para reduzir a complexidade dos cálculos, foram realizados cortes de 8 Å na área de interesse de cada proteína por meio do software Visual Molecular Dynamics (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996). Na ApoE2, os cortes foram realizados com as cisteínas 112 e 158 (CYS 112 e CYS 158) centralizadas, enquanto na ApoE3 apenas a CYS 112 e na ApoE4 a ARG 112, devido à ausência de cisteínas em sua estrutura.

4.3 Construção e otimização do metilmercúrio

A estrutura do CH₃Hg foi construída no software Avogadro (HANWELL ET AL., 2012) e, para determinar a estrutura de menor energia, a Teoria do Funcional da Densidade (DFT, do inglês Density Functional Theory) foi empregada, por meio do software Gaussian 09 (Frisch; Pople; Binkley, 1984a). Nesse processo, aplicou-se o funcional B3LYP (STEPHENS ET AL., 1994) com os conjuntos de base 6-31+g(d,p) (FRISCH; POPLER; BINKLEY, 1984) para descrever o átomo de carbono e de hidrogênio e o LanL2DZ (HAY; WADT, 1985) para descrever o átomo de mercúrio. Essa escolha possibilita a viabilidade computacional para sistemas contendo metais pesados.

4.4 Determinação da entalpia de interação

Após a seleção das estruturas no Avogadro, o CH₃Hg foi posicionado próximo a cisteína das proteínas, exceto na ApoE4, onde foi inserido nas proximidades do resíduo ARG 112. Dessa forma, um arquivo de entrada foi gerado contendo as coordenadas de cada átomo para ser simulado no software MOPAC® (Molecular Orbital Package) versão 22.1.1 (STEWART, 2016). Na simulação, foi usado o PM6-

D3H4 (ŘEZÁČ; HOBZA, 2012) um modelo semiempírico que incorpora as correções de ligação de hidrogênio e forças de dispersão. Os parâmetros empregados incluíram limite de gradiente normalizado de 10,00 kcal·mol⁻¹ em cada sistema e determinadas verificações de segurança foram desconsideradas devido à complexidade das estruturas analisadas.

Por fim, o CH₃Hg foi posicionado próximo ao resíduo de interesse em cada isoforma, e os sistemas foram submetidos à otimização, gerando ao final, no arquivo de saída, a entalpia de formação do sistema.

Para determinar as entalpias de interação, foi usada a seguinte equação:

$$\Delta H_{Int} = \Delta H_{APOE-CH_3Hg} - [\Delta H_{APOE} + \Delta H_{CH_3Hg}] \quad (1)$$

Em que ΔH_{Int} é a energia de interação entre as proteínas e o CH₃Hg, $\Delta H_{APOE-CH_3Hg}$ a energia de interação entre o sistema proteína-CH₃Hg, ΔH_{APOE} a energia de formação da proteína com o ligante sem ligação e ΔH_{CH_3Hg} a energia de formação do CH₃Hg. Após as simulações, os dados foram coletados e postos em uma tabela.

4.5 Avaliação das interações interatômicas por meio do Modelo de Gradiente Independente Médio

Para determinar o tipo de interação intermolecular entre as proteínas e o CH₃Hg, foi utilizado o método do Modelo de Gradiente Independente Médio (alGM, do inglês Averaged Independent Gradient Model) a partir do software Multiwfn v.3.8 (LU, 2024; LU; CHEN, 2012). As estruturas das proteínas e o CH₃Hg foram selecionados como fragmentos para a definição das isosuperfícies e caracterização das interações moleculares, possibilitando correlacionar as energias obtidas no MOPAC com os padrões espaciais de ligação. Essas interações foram classificadas do tipo forte quando representavam ligações de hidrogênio, íon-dipolo ou outras de alta intensidade; do tipo fraco quando indicavam interações de van der Waals; e foram consideradas também interações de repulsão, associadas a impedimentos estéricos.

4.6 Análise das interações por meio do método RDG

A análise das interações foi realizada utilizando o método do Reduced Density Gradient (RDG), implementado no programa Multiwfn (Lu & Chen, 2012). O RDG

consiste em um descritor baseado na densidade eletrônica e em seu gradiente reduzido, permitindo identificar regiões do espaço molecular associadas a diferentes tipos de interação, tais como ligações de hidrogênio, forças de dispersão e repulsões estéricas.

Assim, foram gerados gráficos bidimensionais de RDG em função de $sign(\lambda_2)\rho$. As análises foram conduzidas tanto para cada isoforma da ApoE isolada quanto para o complexo formado entre CH_3Hg e a proteína. Essa abordagem possibilitou a comparação direta dos perfis de interação nos dois sistemas, permitindo avaliar as modificações que a presença do MeHg causa no ambiente eletrônico no sítio ativo de ligação.

5 RESULTADOS

5.1 Energia de interação

Na **Tabela 2** estão apresentados os valores de energia de interação entre as isoformas da ApoE e o CH₃Hg. O valor de energia do CH₃Hg foi considerado fixo, correspondente a 224,40 kcal/mol. Assim, os valores de energia do sistema ApoE + CH₃Hg foram obtidos a partir da soma da energia calculada para cada isoforma da ApoE com o valor fixo referente ao CH₃Hg.

Tabela 2 – Valores de energia de interação dos conjuntos ApoE–CH₃Hg, ApoE + CH₃Hg e da interação entre os dois componentes

Isoforma	Energia ApoE (kcal/mol)	Energia CH ₃ Hg (kcal/mol)	Energia ApoE + CH ₃ Hg (kcal/mol)	Sistema ApoE-CH ₃ Hg (kcal/mol)	Energia de Interação (kcal/mol)
ApoE2 (CYS 112)	-2056,09	224,40	-1831,69	-1960,10	-128,41
ApoE2 (CYS 158)	-2941,6	224,40	-2717,20	-2867,70	-150,50
ApoE3	-2973,22	224,40	-2748,82	-2940,00	-191,18
ApoE4	-3036,47	224,40	-2812,07	-2747,27	64,80

Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Legenda: Energia ApoE = valor de energia calculado para a isoforma isolada; Energia CH₃Hg = valor fixo correspondente ao metilmercúrio (224,40 kcal/mol); Energia ApoE + CH₃Hg = soma das energias da isoforma e do CH₃Hg; Sistema ApoE-CH₃Hg = valor de energia de interação dos complexos ApoE-CH₃Hg; Energia de Interação = diferença entre o valor total do sistema e a soma dos componentes isolados.

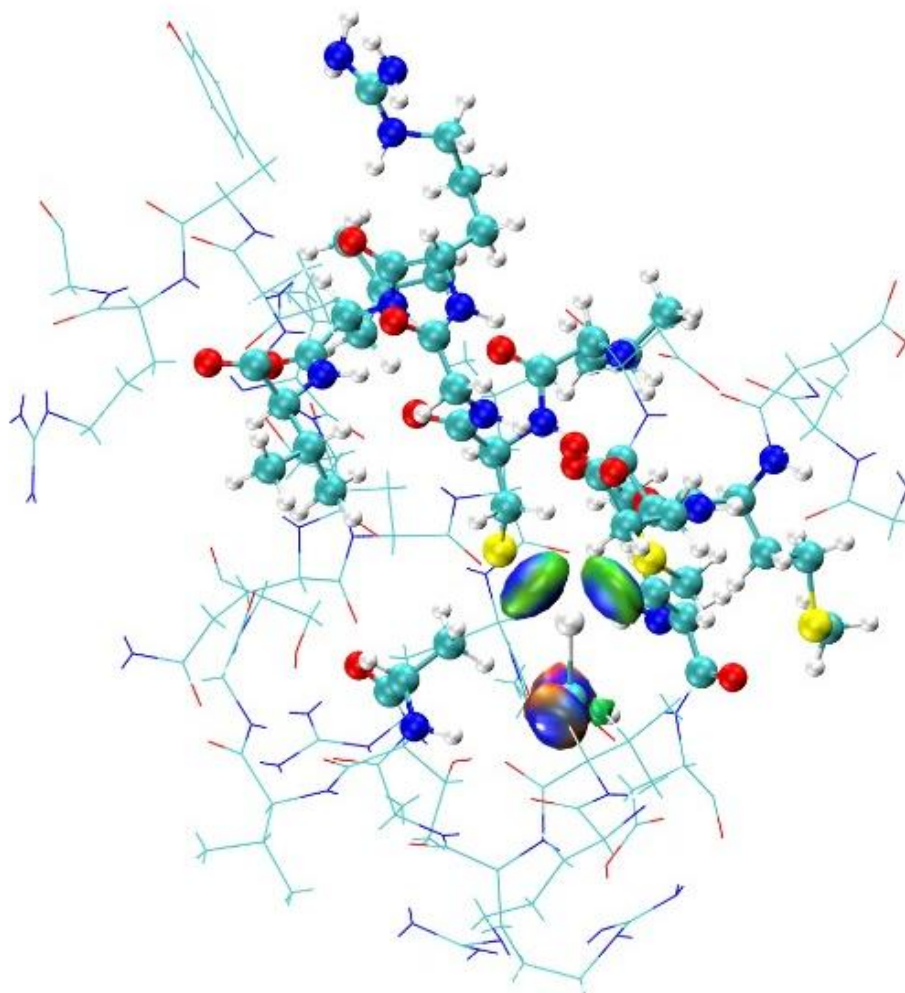
Esses cálculos permitem estimar a estabilidade relativa dos complexos formados e identificar diferenças potenciais entre as isoformas quanto ao perfil de interação com o CH₃Hg. Valores de energia mais negativos indicam interações mais estáveis e, portanto, maior afinidade entre a isoforma da ApoE e o MeHg. Por outro lado, valores menos negativos sugerem interações mais fracas, o que pode refletir menor tendência à formação de complexos estáveis. Essa análise fornece fundamentos para discutir os efeitos estruturais e funcionais associados a cada isoforma no contexto da toxicidade diferencial do MeHg.

Ao analisar a Tabela 2, observa-se que as interações entre as isoformas da ApoE que contêm resíduos de cisteína apresentam valores de energia negativos, indicando maior estabilidade dos complexos ApoE-CH₃Hg. Essa estabilidade reduz a reatividade do sistema, favorecendo a formação da ligação Cys-HgCH₃. Entre as isoformas, a ApoE2 apresentou a maior estabilidade (-278,91 kcal·mol⁻¹), seguida pela ApoE3. Já a ApoE4 apresentou valor positivo de energia, o que evidencia maior instabilidade na interação entre seus resíduos e o CH₃Hg.

5.2 Interações interatômicas

Para esta etapa, as estruturas das isoformas da ApoE e da molécula de CH₃Hg foram selecionadas como fragmentos e submetidas à análise de isosuperfícies, de modo a determinar os pontos de contato e a natureza das interações estabelecidas. As interações foram classificadas em fortes (para ligações de hidrogênio e interações íon–dipolo), fracas (de van der Waals) e de repulsão, associadas a impedimentos estéricos. Essa análise possibilita não apenas a identificação dos tipos de interação predominantes em cada isoforma, mas também a comparação entre elas quanto ao potencial de ligação ao MeHg. A **Figura 7** ilustra a interação entre um fragmento da ApoE2 e o CH₃Hg, destacando o resíduo de cisteína 112.

Figura 7: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys112 com o CH_3Hg .



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Legenda: Na representação, as esferas azul-claro correspondem aos átomos de carbono, as esferas brancas aos átomos de hidrogênio, as esferas azul-escuro aos átomos de nitrogênio, as esferas amarelas aos átomos de enxofre e a esfera cinza ao átomo de mercúrio (indicado pelas letras Hg em verde).

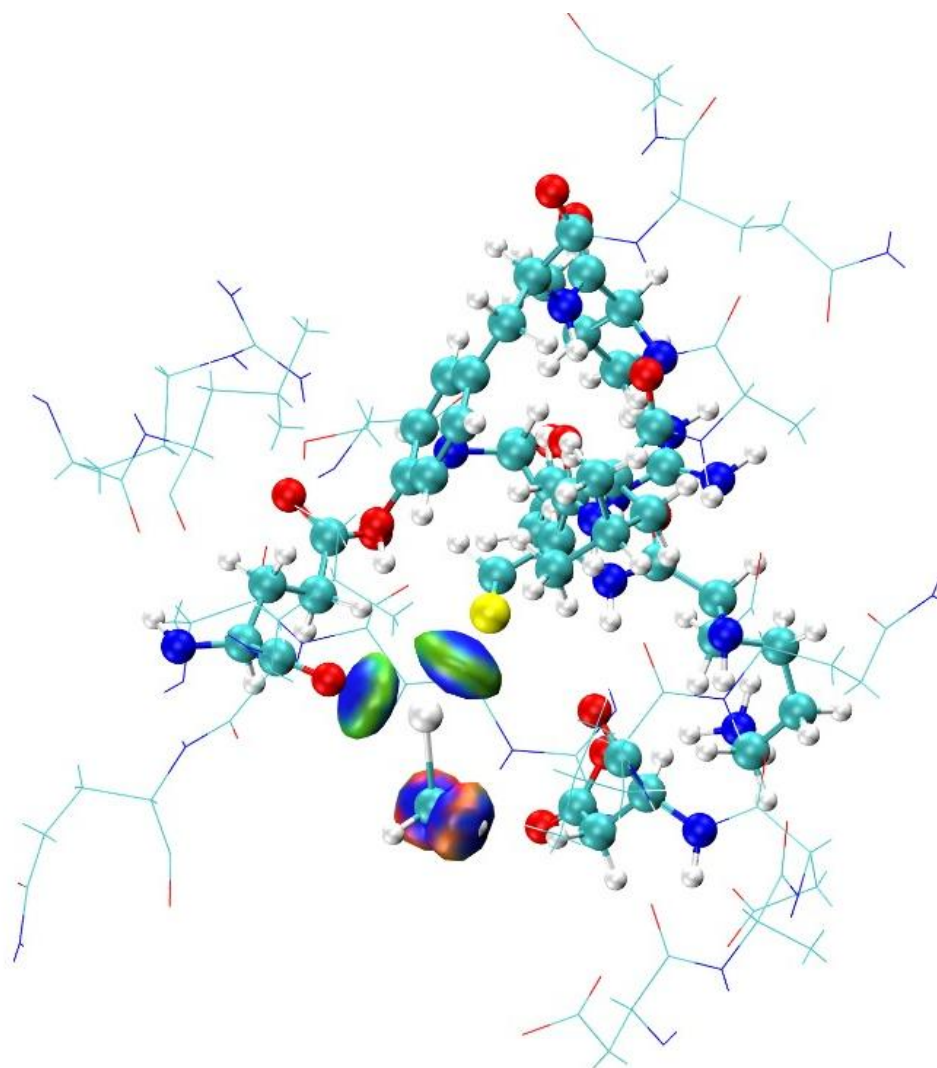
Observa-se que o átomo de mercúrio, representado em cinza, encontra-se em proximidade direta com o átomo de enxofre em amarelo da cisteína, evidenciando a formação de uma interação do tipo Cys-HgCH₃. A presença de isosuperfícies coloridas na região de contato reforça a existência de interações localizadas compatíveis com ligações fortes, comumente descritas para metais pesados interagindo com grupos -SH (Bridges; Zalups, 2017; Clarkson; Magos, 2006a; Nogara et al., 2019). Esse resultado é consistente com a maior estabilidade energética

observada para a ApoE2 em comparação às demais isoformas (Tabela 2), uma vez que a presença de resíduos de cisteína favorece a ancoragem do metilmercúrio.

Além da interação evidenciada entre o átomo de mercúrio e a Cys112, é possível verificar que o CH_3Hg estabelece contato direto com outros resíduos sulfurados da proteína. Observa-se que as interações do mercúrio com os átomos de enxofre presentes nos resíduos de cisteína (à esquerda) e de metionina (à direita) são classificadas como fortes, representadas pela densidade azul nas isosuperfícies, o que indica a formação provável de ligações Hg-S. Paralelamente, identificam-se interações fracas do tipo van der Waals, indicadas pela cor verde, envolvendo o CH_3Hg e demais resíduos da ApoE2.

As isosuperfícies também evidenciam interações intramoleculares fortes entre os átomos do radical metila, bem como regiões de repulsão de menor intensidade com outros resíduos da proteína, representadas pela coloração avermelhada. Esses achados reforçam que a estabilidade observada para o complexo ApoE2- CH_3Hg resulta da combinação de interações atrativas fortes (Hg-S) e interações secundárias mais fracas, moduladas por forças de van der Waals e de repulsões. A **Figura 8** apresenta as isosuperfícies do CH_3Hg em interação com a isoforma ApoE2, destacando o resíduo Cys158.

Figura 8: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE2, destacando a interação do resíduo Cys158 com o CH_3Hg .



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

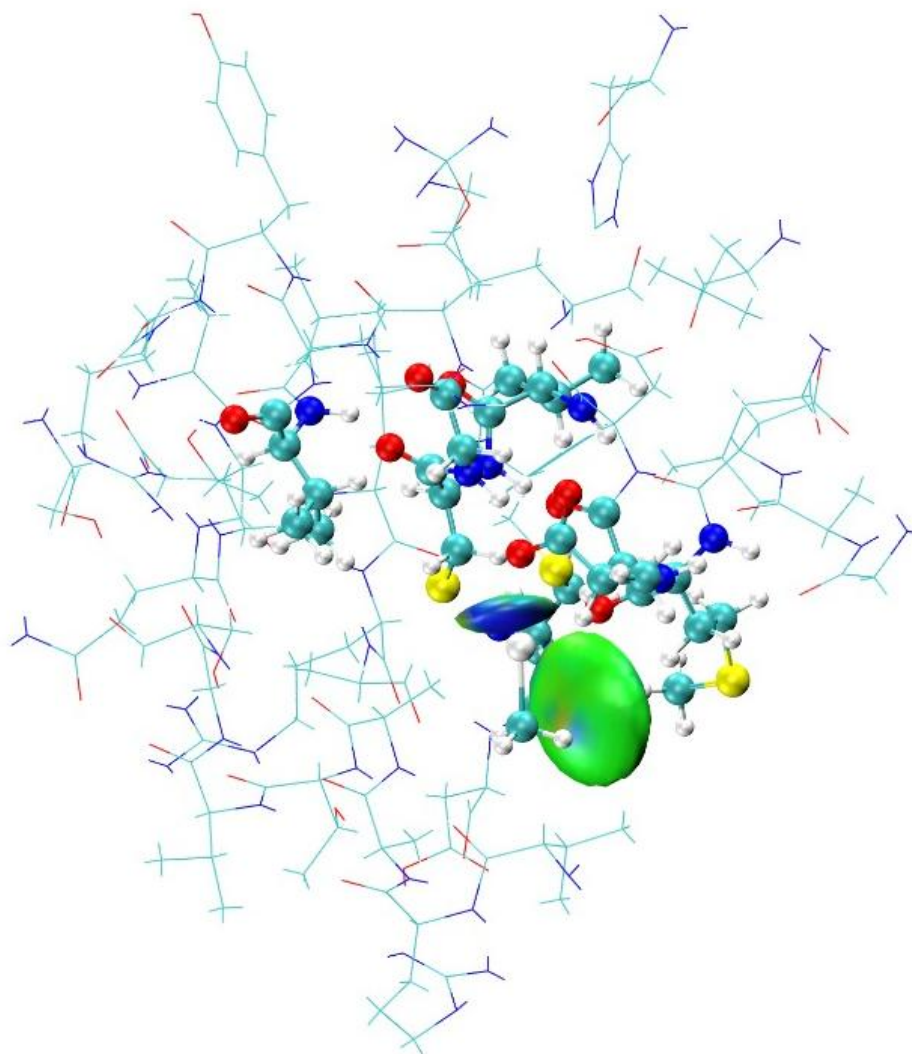
Legenda: Na representação, as esferas azul-claro correspondem aos átomos de carbono, as esferas brancas aos átomos de hidrogênio, as esferas azul-escuro aos átomos de nitrogênio, as esferas amarelas aos átomos de enxofre e a esfera cinza ao átomo de mercúrio (indicado pelas letras Hg em verde).

Semelhante ao observado na Figura 1 para a Cys112, identificam-se duas densidades eletrônicas de maior intensidade entre o átomo de mercúrio e o enxofre da cisteína, bem como com um átomo de oxigênio próximo, o que sugere a presença de interações fortes do tipo Hg-S e Hg-O. Ressalta-se que a aproximação entre o mercúrio e átomos de oxigênio com carga negativa é favorecida pelo seu elevado raio atômico, aliado à diferença de cargas envolvida. Além disso, observa-se uma interação mais fraca de menor intensidade, provavelmente associada a contatos de

van der Waals, além de interações intramoleculares fortes entre os átomos do radical metila e regiões de repulsão em baixa intensidade (representadas pela coloração vermelha).

Comparando-se com a Figura 1, nota-se que tanto a Cys112 quanto a Cys158 são capazes de formar interações estáveis com o CH_3Hg . A Cys112, localizada em uma região mais acessível da proteína, favorece a aproximação do metilmercúrio e a ocorrência de interações adicionais com resíduos vizinhos. Já a Cys158, embora situada em um ambiente mais restrito, apresentou valores energéticos mais negativos (Tabela 2), indicando a formação de um complexo ainda mais estável. Dessa forma, ambas as cisteínas contribuem para a elevada afinidade da ApoE2 pelo metilmercúrio, sendo a Cys158 determinante para a maior estabilidade total do sistema. A **Figura 9** apresenta as densidades eletrônicas referentes à interação da isoforma ApoE3 com o CH_3Hg .

Figura 9: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE3 com o CH_3Hg .



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

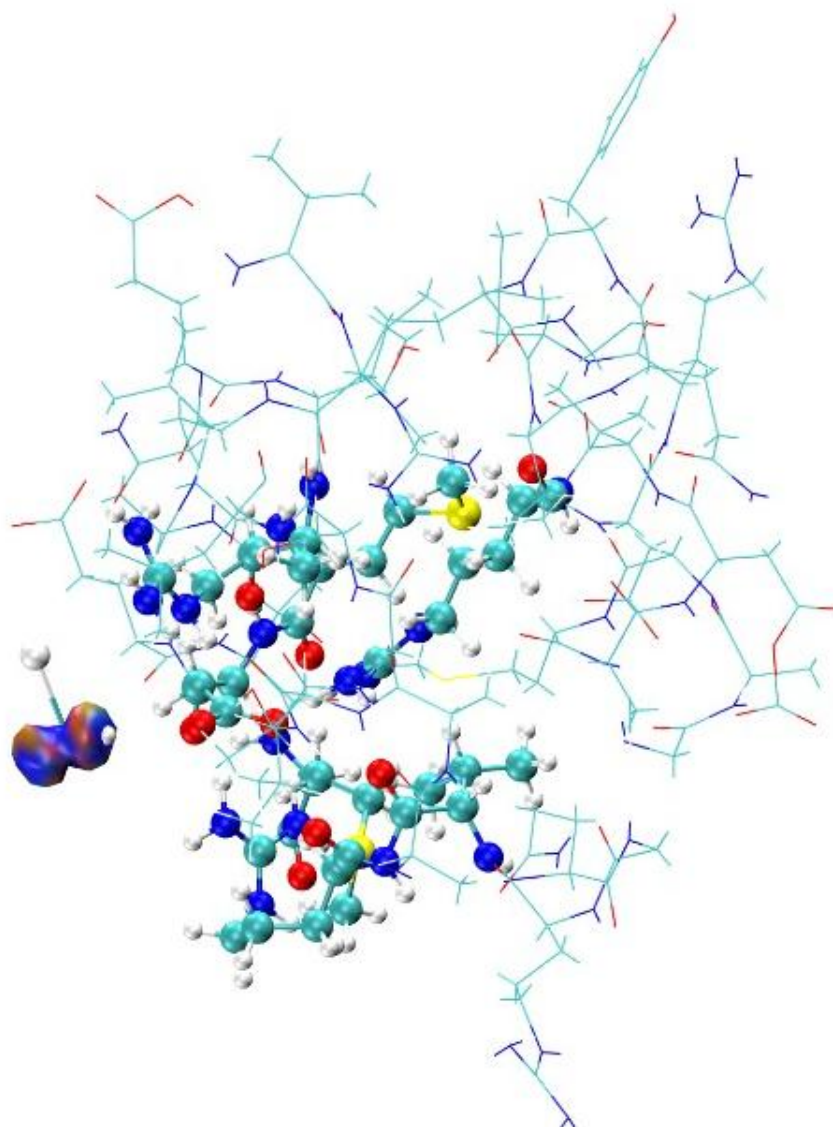
Legenda: Na representação, as esferas azul-claro correspondem aos átomos de carbono, as esferas brancas aos átomos de hidrogênio, as esferas azul-escuro aos átomos de nitrogênio, as esferas amarelas aos átomos de enxofre e a esfera cinza ao átomo de mercúrio (indicado pelas letras Hg em verde).

Assim como observado para a ApoE2 (Figuras 7 e 8), identifica-se a formação de interações fortes entre o átomo de mercúrio e os átomos de enxofre da cisteína e da metionina, evidenciadas pela coloração azul nas isosuperfícies. No entanto, a intensidade dessas interações mostra-se menor em comparação à ApoE2, o que pode estar relacionado a um leve distanciamento do complexo Cys-HgCH_3 após a otimização estrutural. Além disso, observa-se a presença de uma interação do tipo van der Waals de maior intensidade entre o átomo de mercúrio e o enxofre de outro resíduo de metionina, representada pela coloração verde. Entretanto, devido à

distância entre os átomos e à influência de resíduos adjacentes, essa interação não apresentou o mesmo padrão observado para os contatos diretos de Hg com grupos sulfidrila.

A análise da Figura 9 evidencia que a ApoE3 mantém a capacidade de interagir com o CH_3Hg por meio de resíduos sulfurados, mas com intensidade reduzida em relação à ApoE2. A presença de contatos adicionais do tipo van der Waals reforça sua estabilidade intermediária, embora menos acentuada do que a observada para a ApoE2. A **Figura 10** mostra a representação da interação entre a ApoE4 e o CH_3Hg .

Figura 10: Visualização pelo método aIGM da isoforma ApoE4 com o CH_3Hg .



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Legenda: Na representação, as esferas azul-claro correspondem aos átomos de carbono, as esferas brancas aos átomos de hidrogênio, as esferas azul-escuro aos átomos de nitrogênio, as esferas amarelas aos átomos de enxofre e a esfera cinza ao átomo de mercúrio (indicado pelas letras Hg em verde).

Como previsto pelos valores energéticos obtidos (Tabela 2), não foram identificadas interações significativas entre o mercúrio e a proteína. Essa ausência de interação está relacionada à falta de resíduos de cisteína na composição da ApoE4, eliminando os sítios preferenciais de ligação do CH_3Hg . As isosuperfícies reveladas referem-se unicamente a interações intramoleculares do radical metila, associadas às ligações C-H, sem envolvimento direto com resíduos críticos da proteína.

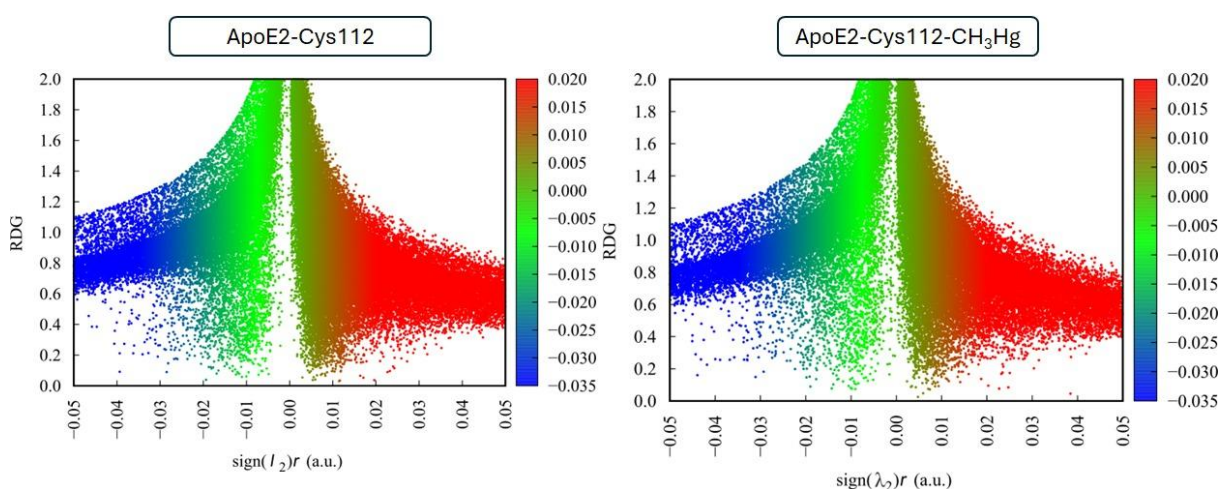
Embora a ApoE4 apresente resíduos de metionina, não foi registrada ligação Hg-S, possivelmente devido à repulsão eletrostática gerada pela presença de resíduos de arginina, que criam um ambiente local desfavorável à aproximação do mercúrio. Comparativamente, enquanto as isoformas ApoE2 e ApoE3 exibiram interações Hg-S estáveis, a ApoE4 destacou-se pela instabilidade do complexo (energia positiva de $64,80 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$), evidenciando sua menor afinidade estrutural com o metilmercúrio. Esse resultado reforça a hipótese de que a substituição de cisteínas por argininas constitui um fator determinante para a instabilidade da ApoE4 frente à interação com o CH_3Hg .

A análise comparativa das isoformas ApoE2, ApoE3 e ApoE4 com o CH_3Hg revelou padrões distintos de interação que refletem diretamente suas diferenças estruturais. A ApoE2 apresentou duas cisteínas (Cys112 e Cys158) capazes de formar ligações Hg-S estáveis, resultando em elevada estabilidade do sistema, conforme indicado pelos valores energéticos negativos. A ApoE3, embora possua apenas uma cisteína na posição 112, também exibiu energia de interação negativa, o que pode ser atribuído a um rearranjo estrutural favorável da Cys112, potencialmente intensificado pela presença da arginina na posição 158 e por ligações adicionais do tipo van der Waals. Já a ApoE4 destacou-se pela ausência de interações relevantes com CH_3Hg devido à substituição das cisteínas por argininas e ao ambiente repulsivo que esses resíduos criam.

5.3 Gráficos de RDG das interações entre os sistemas

O RDG é uma ferramenta que nos permite enxergar e classificar as interações não-covalentes presentes na molécula, diferenciando se elas são atrativas, repulsivas ou apenas fracas. Isso ajuda a entender como a presença do MeHg altera o perfil de interações e modifica o ambiente local nos resíduos alvo. A **Figura 11** apresenta os gráficos RDG obtidos para o sistema APOE2-Cys112 na ausência e presença do CH₃Hg.

Figura 11: Análise da interação entre APOE2-Cys112 e MeHg.

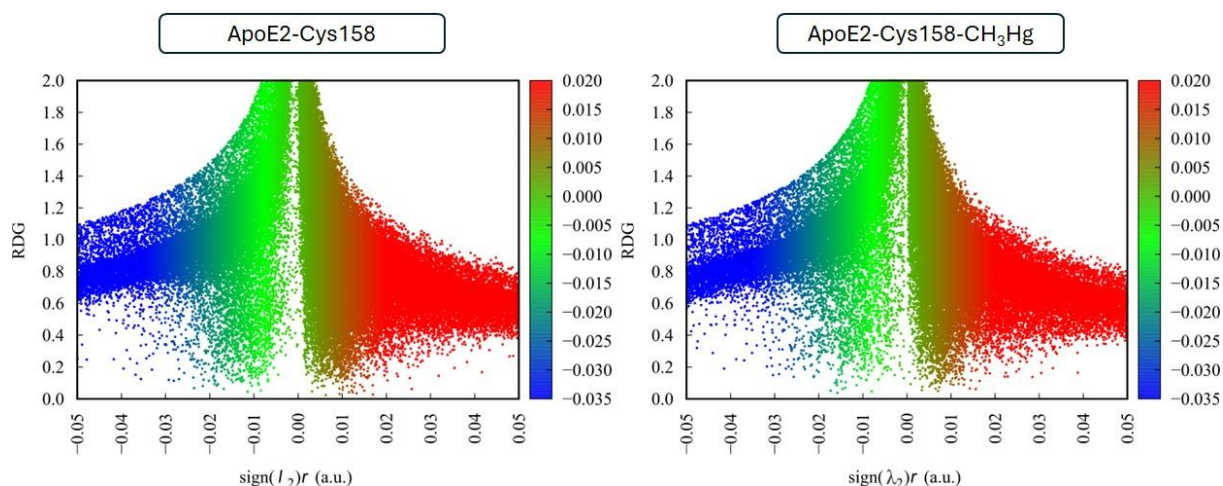


Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Gráficos de RDG em função de $\text{sign}(\lambda_2)r$ para os sistemas ApoE2-Cys112 (à esquerda) e ApoE2-Cys112-CH₃Hg (à direita). As regiões em azul indicam interações atrativas, em verde interações fracas de van der Waals e em vermelho interações repulsivas. Nota-se que a presença do CH₃Hg modifica o perfil de interações em torno da Cys112, sugerindo participação deste resíduo como potencial sítio de ligação ao metal.

A análise por meio dos gráficos RDG foi conduzida para o resíduo Cys112 da ApoE2, onde observamos que a presença do CH₃Hg promoveu mudanças significativas no perfil de interações não-covalentes. Enquanto a Cys112 isolada apresenta distribuição característica de interações difusas e de menor intensidade, o complexo com CH₃Hg exibe maior concentração de pontos em regiões atrativas (azul) e de dispersão (verde). Esse resultado sugere que o MeHg modifica o ambiente local da Cys112, favorecendo interações específicas que corroboram sua alta afinidade por grupos -SH, reforçando a relevância do resíduo Cys112 como potencial sítio de ligação. A mesma análise foi conduzida para o resíduo Cys158 da ApoE2 (**Figura 12**).

Figura 12: Análise da interação entre APOE2-Cys158 e MeHg.

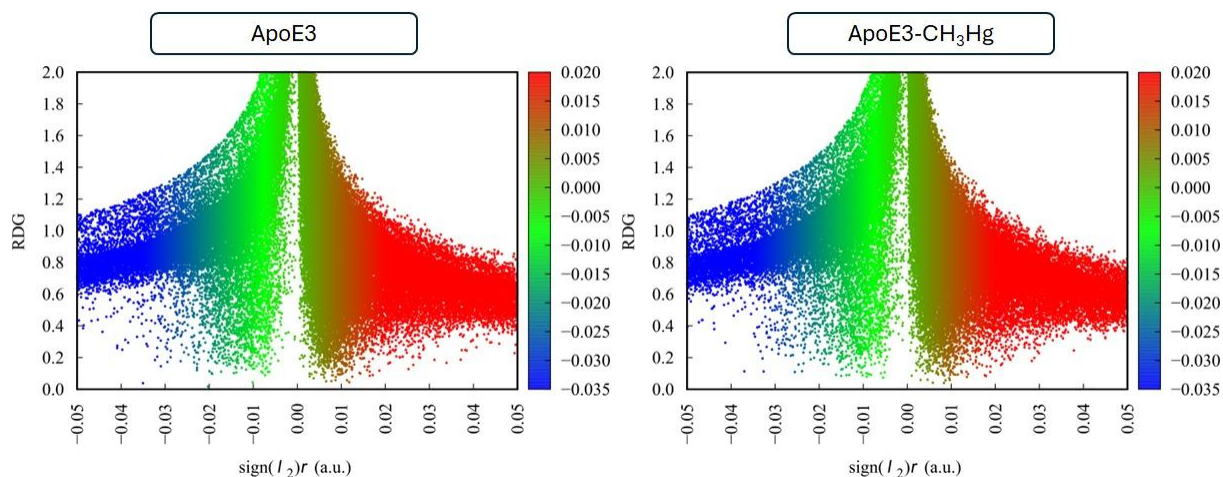


Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Gráficos de RDG em função de $\text{sign}(\lambda_2)r$ para os sistemas ApoE2-Cys158 (à esquerda) e ApoE2-Cys158-CH₃Hg (à direita). As regiões em azul indicam interações atrativas, em verde interações fracas de van der Waals e em vermelho interações repulsivas.

De forma semelhante ao observado para a Cys112, nota-se que a presença do CH₃Hg promoveu mudanças significativas no perfil de interações não-covalentes. A análise por meio dos gráficos evidencia diferenças marcantes entre o resíduo Cys158 isolado e em complexo com CH₃Hg. No sistema APOE2-Cys158, observa-se um perfil caracterizado principalmente por interações fracas e difusas, representadas pela predominância de pontos nas regiões verdes. Já na presença do CH₃Hg, nota-se uma intensificação das interações atrativas (regiões azuis) e de dispersão (regiões verdes), refletindo a formação da ligação Hg–S, formando um complexo mais estável. Esses achados sugerem que tanto a Cys112 quanto a Cys158 podem atuar como sítios preferenciais para a ligação do MeHg. Para avaliar se o mesmo comportamento se repete em outra isoforma, realizamos a análise de interações não-covalentes para a ApoE3, na ausência e presença do CH₃Hg (**Figura 13**).

Figura 13: Análise da interação entre APOE3 e MeHg.

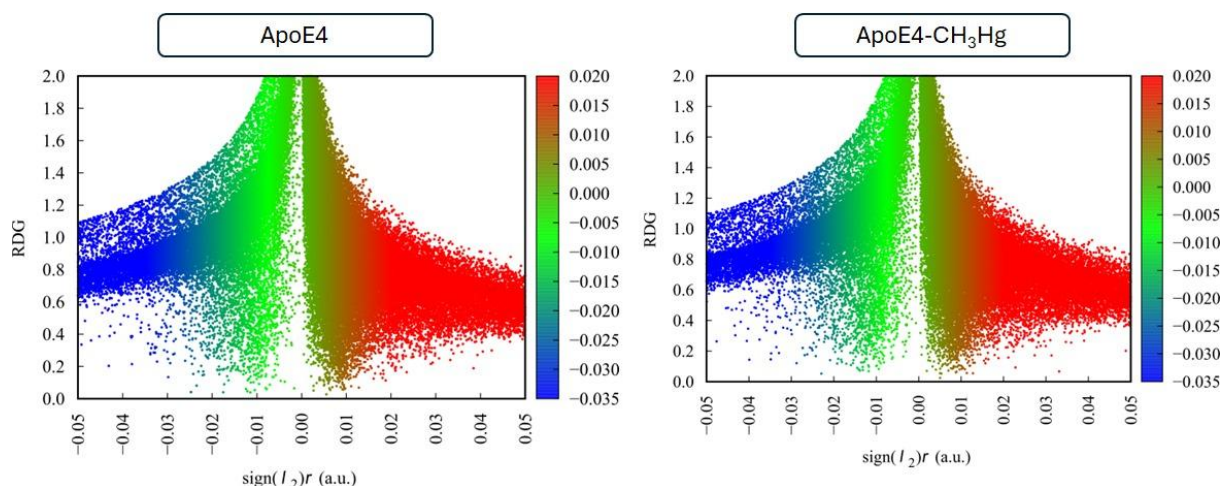


Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Gráficos de RDG em função de $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para os sistemas ApoE3 (à esquerda) e ApoE3-CH₃Hg (à direita). As regiões em azul indicam interações atrativas, em verde interações de van der Waals e em vermelho interações repulsivas. A comparação entre os gráficos mostra que a presença do CH₃Hg altera o perfil de interações não-covalentes na ApoE3, embora de forma menos pronunciada do que o observado na ApoE2.

A análise do perfil de interações não-covalentes da ApoE3 mostrou que o sistema isolado apresenta distribuição típica de interações difusas, com predominância de regiões verdes (van der Waals) e repulsivas (vermelhas). Na presença do CH₃Hg, observa-se o surgimento de interações atrativas adicionais (regiões azuis), indicando a formação de ligações estabilizantes entre o metal e a proteína. No entanto, a intensidade e a concentração dessas interações parecem menos evidentes do que nas análises conduzidas para a ApoE2. Por fim, foi realizada a análise do perfil de interações não-covalentes na isoforma ApoE4, na ausência e presença do CH₃Hg (**Figura 14**).

Figura 14: Análise da interação entre APOE4 e MeHg.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

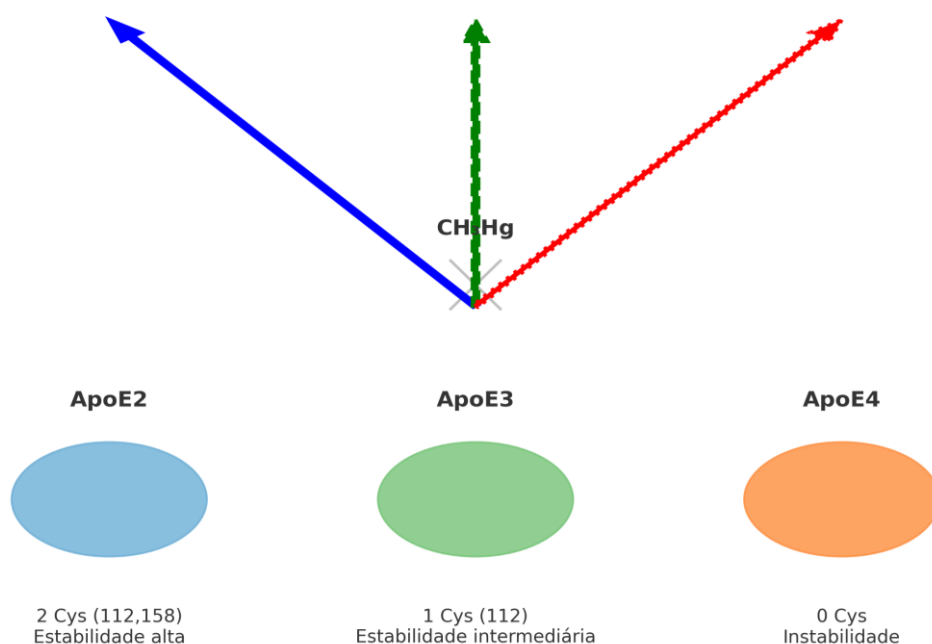
Gráficos de RDG em função de $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para os sistemas ApoE4 (à esquerda) e ApoE4-CH₃Hg (à direita). As regiões em azul correspondem a interações atrativas, em verde a interações de van der Waals e em vermelho a interações repulsivas. Nota-se que a presença do CH₃Hg promove alterações no perfil de interações, embora menos evidentes do que aquelas observadas para a ApoE2 e ApoE3.

A análise da isoforma ApoE4 revelou que, no sistema isolado, predominam interações fracas de van der Waals (regiões verdes) e repulsivas (vermelhas), enquanto as regiões atrativas (azuis) são menos pronunciadas. Com a introdução do CH₃Hg, surgem sinais adicionais de interações atrativas, porém em intensidade reduzida quando comparada às isoformas ApoE2 e ApoE3. Esses resultados sugerem que a ApoE4 apresenta menor capacidade de estabilização por meio de ligações Hg–S ou outras interações atrativas, o que pode estar relacionado à menor afinidade desta isoforma pelo MeHg.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo revelam que as interações entre o CH_3Hg e as isoformas da ApoE são moduladas pela presença ou ausência de resíduos de cisteína, refletindo-se em diferentes padrões de estabilidade energética. Os valores da energia de interação podem ser explicados pelas diferenças estruturais fundamentais entre as isoformas. Enquanto a ApoE2 e a ApoE3 apresentam resíduos de cisteína nas suas posições 112 e/ou 158, o que favorece a interação com o MeHg devido à presença dos grupos $-\text{SH}$, a ApoE4 apresenta substituição desses resíduos por arginina. A **Figura 5** apresenta um modelo esquemático comparativo das interações entre o CH_3Hg e as isoformas da ApoE. Esse esquema ilustra como as diferenças estruturais impactam a estabilidade dos complexos.

Figura 15: Esquema conceitual: Interações do CH_3Hg com isoformas da ApoE.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Figura 5. Esquema conceitual representando as interações do CH_3Hg com as isoformas da ApoE. Na ApoE2, a presença de duas cisteínas (Cys112 e Cys158) possibilita interações Hg-S estáveis, resultando em maior estabilidade do complexo. Na ApoE3, apenas a Cys112 está disponível, permitindo uma interação estável, porém de intensidade intermediária. Já na ApoE4, a substituição das cisteínas por argininas elimina os principais sítios de ligação, resultando em ausência de interações significativas e instabilidade do complexo. As setas indicam a intensidade das interações: contínua (forte), tracejada (intermediária) e pontilhada (ausente/instável).

No presente estudo, apenas as isoformas ApoE2 e ApoE3 apresentaram energias de interação negativas, enquanto a ApoE4 não demonstrou interações estáveis, resultando em energia positiva. Esses resultados contrastam, em parte, com o estudo experimental de Berntsson et al. (2022), que investigou a ligação de íons Hg(II) às isoformas da ApoE e encontrou afinidades de ligação semelhantes entre ApoE2, ApoE3 e ApoE4 ($K_d \sim 4\text{-}5 \mu\text{M}$). No entanto, apesar da similaridade na afinidade, os autores relataram que o mercúrio induziu alterações estruturais distintas, mais pronunciadas na ApoE4.

Assim, enquanto Berntsson et al. sugerem que todas as isoformas são capazes de interagir com o mercúrio, os resultados descritos anteriormente destacam que apenas ApoE2 e ApoE3 estabelecem interações Hg-S energeticamente estáveis com o metilmercúrio, ao passo que a ApoE4 permanece instável. Essas diferenças podem estar relacionadas a diferença dos compostos estudados, Hg^{2+} e CH_3Hg^+ , e aos resíduos-alvo envolvidos. Enquanto consideramos especificamente as interações Hg-S (cisteínas), Berntsson et al. analisaram Hg(II), que pode interagir também com outros resíduos, não apenas cisteínas. No entanto, ambos os trabalhos reforçam a hipótese de que a ApoE4 é estruturalmente mais vulnerável aos efeitos do mercúrio, ainda que por mecanismos distintos.

A caracterização das interações interatômicas é uma abordagem fundamental para compreender os mecanismos que modulam a estabilidade e a afinidade entre as isoformas da ApoE e o CH_3Hg e identificar os tipos de interação envolvidos, fornecendo uma descrição mais detalhada da natureza dos complexos formados (Contreras-García et al., 2011; Johnson et al., 2010). Neste trabalho, aplicou-se o modelo aIGM nos quatro sistemas analisados que permite distinguir interações atrativas e repulsivas com base em propriedades do gradiente eletrônico (Lu; Chen, 2012).

A ApoE2 e a ApoE3 demonstraram elevada afinidade pelo metilmercúrio, enquanto a ApoE4 apresentou ausência de interações significativas. Esses achados se alinham a estudos prévios que destacam a elevada afinidade do mercúrio por grupos sulfidríla, como os presentes em resíduos de cisteína e sustentam a hipótese de que variações estruturais da ApoE influenciam sua capacidade de interação com metais pesados (Bridges; Zalups, 2017; Clarkson; Magos, 2006a).

A análise RDG comparativa entre as isoformas indica que a introdução do CH_3Hg altera o perfil de interações não-covalentes locais, gerando um aumento

relativo nas regiões associadas a interações atrativas e de dispersão. Ao comparar as isoformas, os gráficos mostram que ApoE2, na presença do CH₃Hg, exibe maior densidade de pontos nas regiões atrativas, ApoE3 apresenta um efeito intermediário e ApoE4 demonstra o menor efeito detectável pelo RDG. A diferença na disponibilidade de grupos -SH entre isoformas explica a maior tendência de ligação observada na ApoE2. Isso sugere a formação de interações mais estabilizantes quando o MeHG está presente, compatível com a formação de complexos Hg-S detectados em outros sistemas proteicos (Rupa et al., 2023).

Assim, a maior estabilidade observada para a ApoE2 e ApoE3 e a presença de interações do tipo forte pode ser atribuída à presença de resíduos de cisteína, capazes de formar ligações Hg-S estáveis. Por outro lado, a substituição desses resíduos por argininas na ApoE4 altera a conformação local da proteína, elimina potenciais sítios de ligação tiol, além de gerar um ambiente eletrostático desfavorável, justificando a afinidade reduzida pelo MeHg e a instabilidade encontrada neste estudo. Esses resultados ajudam a explicar, em nível molecular, evidências clínicas e epidemiológicas que associam a presença do alelo ε4 da ApoE a maior vulnerabilidade aos efeitos tóxicos do metilmercúrio.

Do ponto de vista funcional, a ligação de mercúrio a resíduos Cys na ApoE pode ter múltiplas implicações, podendo causar alterações conformacionais na proteína e interferir na sua interação com lipídios ou receptores, além de contribuir para efeitos toxicológicos observados em estudos epidemiológicos e experimentais sobre risco cognitivo (Gasmi et al., 2022b; Xu; Finkelstein; Adlard, 2014a). Estudos populacionais em diferentes contextos mostraram que indivíduos portadores da ApoE4 apresentam piores desfechos neurológicos quando expostos ao mercúrio, incluindo déficits cognitivos, prejuízos no desenvolvimento infantil e alterações neuropsicológicas (Arrifano et al., 2018; Ng et al., 2015; Snoj Tratnik et al., 2017a; Wojcik et al., 2006).

Além disso, um estudo com populações amazônicas expostas mostrou que portadores do alelo ε4 apresentaram maiores níveis corporais de mercúrio, o que pode intensificar os efeitos tóxicos do metal nesse grupo genético (Arrifano et al., 2018). Esses achados estão de acordo com a hipótese proposta por Pendergrass e Haley (1995), que a isoforma ApoE4 apresenta capacidade reduzida de ligação ao mercúrio quando comparada à ApoE2. Órgãos com elevado conteúdo de ApoE, como o SNC, seriam afetados por essa menor capacidade de quelar o metal e, por isso, uma maior

fração de mercúrio permaneceria na forma livre, favorecendo seu acúmulo e potencializando os efeitos neurotóxicos.

A ausência de resíduos de cisteína na ApoE4, evidenciada neste trabalho, elimina os principais sítios de ligação do CH₃Hg, resultando em interações instáveis. Essa instabilidade sugere que, em portadores da ApoE4, o metilmercúrio permanece mais disponível para interagir com outras biomoléculas, como proteínas neuronais e mitocondriais, favorecendo processos de estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação, mecanismos já descritos em associação à toxicidade do metal (Crespo-López et al., 2009b; Karagas et al., 2012).

Assim, a partir dos achados computacionais, é possível propor que a ApoE4, ao não reter eficientemente o CH₃Hg, contribui para a maior susceptibilidade clínica observada em seus portadores. Em contraste, as isoformas ApoE2 e ApoE3, ao apresentarem resíduos de cisteína capazes de estabilizar interações Hg-S, funcionariam reduzindo a fração de mercúrio livre circulante e, conseqüentemente, seus efeitos tóxicos. Essa hipótese amplia a compreensão de como a genética da *APOE* modula a toxicidade do mercúrio e fornece uma base para os achados clínicos já descritos em diferentes populações expostas.

A **Tabela 3** resume os principais estudos encontrados na literatura que avaliaram a associação entre o gene *ApoE* e a exposição ao MeHg ou Hg. Estão descritos o ano, desenho do estudo, população/amostra, achados relacionados ao gene *ApoE*, medidas de mercúrio e principais conclusões, bem como os identificadores de referência (PMID/URL).

Tabela 3 – Principais estudos envolvendo ApoE e Metilmercúrio

Citação (Autor)	Ano	Desenho do estudo	Amostra/ Modelo	Achados APOE	Medida de mercúrio	Principais resultados	PMID/URL
Ng S. et al. 2013 - Mercury, APOE, and children's neurodevelopment	2013	Coorte (exposição pré-natal).	Crianças (pares mãe-filho).	Os portadores de ε4 apresentaram efeitos adversos mais fortes no neurodesenvolvimento.	Hg pré-natal / sangue do cordão umbilical.	Neurodesenvolvimento adverso associado ao Hg pré-natal entre portadores de ε4.	PMID:23603214 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23603214/

Ng S. et al. 2015 - Mercury, APOE, and child behavior	2015	Coorte (do nascimento aos 2 anos).	166 indivíduos	Variantes de APOE modificaram associações de comportamento de Hg.	Hg do sangue do cordão umbilical.	Variantes do APOE influenciaram a associação entre o Hg do cordão e o comportamento posterior da criança.	PMID:25014903 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25014903/
Trdin A. et al. 2020 - Trace elements and APOE polymorphisms in pregnant women	2020	Transversal (gestantes).	Mães e recém-nascidos (n varia).	As mães com $\epsilon 4$ apresentaram níveis médios mais elevados de MeHg.	Sangue periférico, sangue do cordão umbilical, cabelo.	Os portadores de $\epsilon 4$ apresentaram níveis significativamente mais altos de MeHg.	PMID:32622117 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32622117/
Palir N. et al. 2023 - ALAD and APOE polymorphisms associated with lead and mercury	2023	Observacional (gestantes e recém-nascidos)	Coorte italiana	Polimorfismos APOE associados aos níveis de mercúrio em mães / recém-nascidos	Medidas de sangue / cabelo	Genótipo APOE associado à variação em biomarcadores de mercúrio.	PMID:36621546 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36621546/
Berntsson E. et al. 2022 - Mercury Ion Binding to Apolipoprotein E Variants	2022	Bioquímico / biofísico (in vitro).	Recombinantes de ApoE (ApoE2/3/4)	Examinou a ligação diferencial de Hg às isoformas de ApoE; sugere uma possível base mecanicista para a suscetibilidade a $\epsilon 4$.	Ensaio de ligação de íons de mercúrio.	Hg induziu alterações estruturais distintas mais pronunciadas na ApoE4, podendo explicar a suscetibilidade específica da isoforma.	PMID:36033665 ; PMCID:PMC9404194 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36033665/ https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9404194/
Arrifano GPF et al. 2018 - Genetic susceptibility to neurodegeneration in Amazon (review)	2018	Revisão / estudo genético em populações amazônicas.	Populações ribeirinhas da Amazônia (n~800).	Discute a distribuição do alelo APOE e possíveis ligações com a suscetibilidade ao mercúrio.	Medidas de Hg no cabelo e no sangue por ICP-MS/GC-pyro-AFS.	Perfil dos genótipos de APOE; revisão de evidências que relacionam APOE à neurotoxicidade do mercúrio.	PMID:30100920 ; PMC: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30100920/ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6073741/

Roque CR et al. 2021 - MeHg affects DNA repair and oxidative stress in APOE KO mice	2021	Estudo animal (camundongos knockout para ApoE).	APOE knockout (dislipidêmicos) – jovens.	Usando o modelo ApoE KO para investigar a interação com as vias de toxicidade do MeHg.	Exposição crônica ao MeHg (oral).	A exposição ao MeHg afetou genes de reparo de DNA, induziu estresse oxidativo e anormalidades cromossômicas em camundongos ApoE KO.	PMID:34670124 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34670124/
Crespo-Lopez ME et al. 2023 - Revisiting Genetic Influence on Mercury Exposure and ... (review)	2023	Análise.	Vários estudos humanos e experimentais.	Resume as evidências de que $\epsilon 4$ pode estar ligado a uma maior carga de Hg ou toxicidade.	Vários biomarcadores em estudos.	Analisa a influência genética (incluindo APOE) na exposição / efeitos do mercúrio.	PMCID:PMC10747380 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10747380/
Tratnik JS et al. 2016/2017 - Prenatal Mercury Exposure, Neurodevelopment and APOE	2016	Coorte (Eslovênia e Croácia).	Pares mãe-filho (n~600 + 243).	Interação examinada de Hg pré-natal com polimorfismo APOE no neurodesenvolvimento.	Hg pré-natal (materno/cordão).	Avaliou APOE como modificador de associações Hg e neurodesenvolvimento.	PMID:27616663 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27616663/
Mutter J. 2004 - Alzheimer disease: mercury as pathogenetic factor	2004	Revisão / hipótese.	Revisão de literatura; teórica.	Propõe que a ApoE4 reduziu a ligação metálica como um possível mecanismo que liga o mercúrio ao risco de DA.	Nível de discussão (dados não primários).	Hipótese de que as isoformas de ApoE diferem no manuseio de metais; ApoE4 pode conferir vulnerabilidade.	PMID:15580166 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15580166/

Diversos estudos têm investigado a possível interação entre polimorfismos do gene *ApoE* e a toxicidade do MeHg ou Hg em modelos humanos e experimentais. Em coortes de gestantes e crianças (Ng et al., 2013, 2015; Palir et al., 2023; Tratnik et al., 2017a), observou-se que portadores do alelo $\epsilon 4$ podem apresentar maior acúmulo de mercúrio em sangue, cabelo ou cordão umbilical, além de efeitos no neurodesenvolvimento mais acentuados. Em modelo experimental, Roque et al. (2021) demonstraram que camundongos knockout para ApoE expostos cronicamente ao MeHg apresentam maior estresse oxidativo e alterações em genes de reparo do DNA. Em conjunto, esses trabalhos sugerem que a variabilidade genética em ApoE

pode modular tanto a toxicocinética quanto a suscetibilidade aos efeitos neurotóxicos do mercúrio.

Nesse sentido, a ApoE pode ser usada como um biomarcador genético promissor para estudos de susceptibilidade à intoxicação por mercúrio. Identificar indivíduos com o alelo $\epsilon 4$ pode auxiliar na estratificação de risco em comunidades expostas, permitindo a adoção de estratégias preventivas e de monitoramento direcionadas. Além disso, o conhecimento sobre como variações estruturais da ApoE modulam interações moleculares com metais pesados pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, a fim de minimizar os efeitos neurotóxicos do mercúrio em populações vulneráveis.

Apesar dos avanços, este estudo apresenta algumas limitações, entre elas, a abordagem estritamente computacional que, embora permita a caracterização detalhada das interações moleculares, não substitui a necessidade de validação experimental. Além disso, outros polimorfismos ou fatores ambientais que podem modular a toxicidade do mercúrio não foram considerados nas simulações. Também, a correlação com achados clínicos se dá de forma indireta, baseada em estudos prévios, o que reforça a necessidade de investigações complementares.

Diante das limitações apresentadas, estudos futuros devem buscar integrar abordagens computacionais e experimentais, a fim de ampliar a compreensão dos mecanismos que modulam a toxicidade do metilmercúrio. Por exemplo, a validação experimental das interações Hg-S e a estabilidade dos sistemas descritos neste trabalho pode ser confirmada por meio de técnicas como espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), cristalografia de raios-X ou espectrometria de massas. A compreensão dos mecanismos de toxicidade do mercúrio mediados pela ApoE, outras variáveis genéticas e ambientais podem abrir caminho para o desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas, voltadas a indivíduos mais vulneráveis, especialmente em comunidades cronicamente expostas ao mercúrio.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram caracterizar, de forma inédita, as interações entre o MeHg e as isoformas da ApoE por meio de métodos computacionais. As análises energéticas mostraram que as isoformas ApoE2 e ApoE3 apresentam maior estabilidade na presença do CH₃Hg, enquanto a ApoE4 se mostrou menos estável, sendo a presença de resíduos de cisteína um fator determinante para a estabilidade dos complexos formados.

As análises de interações não-covalentes pelo método RDG complementaram esses achados, revelando que a presença do CH₃Hg intensifica interações atrativas nos resíduos sulfurados da ApoE2 e ApoE3, mas não exerce o mesmo efeito na ApoE4, devido à ausência de cisteínas. Essa instabilidade da ApoE4 frente ao CH₃Hg pode contribuir para a maior vulnerabilidade observada em seus portadores, uma vez que o metal permanece mais disponível para interagir com alvos celulares, desencadeando processos de estresse oxidativo, neuroinflamação e disfunção mitocondrial. Dessa forma, o presente trabalho complementa evidências já embasadas na literatura e fornece uma ligação entre análises moleculares e observações populacionais.

Desse ponto de vista, a caracterização das diferenças estruturais entre as isoformas da ApoE frente ao MeHg reforça o potencial dessa proteína como biomarcador de risco. A identificação de indivíduos portadores do alelo ε4 em populações cronicamente expostas pode auxiliar na estratificação de risco, no monitoramento clínico e no desenvolvimento de estratégias preventivas em saúde pública. Futuras pesquisas que integrem modelagem molecular, validação experimental e estudos epidemiológicos poderão ampliar a compreensão da toxicidade do MeHg e reforçar a construção de intervenções direcionadas para grupos vulneráveis.

REFERÊNCIAS

AJSUVAKOVA, Olga P. *et al.* Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 417, p. 213343, ago. 2020.

ANDREOLI, Virginia; SPROVIERI, Francesca. Genetic Aspects of Susceptibility to Mercury Toxicity: An Overview. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 1, p. 93, 18 jan. 2017.

ANTUNES DOS SANTOS, Alessandra *et al.* Methylmercury and brain development: A review of recent literature. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 38, p. 99–107, 1 dez. 2016.

ANTUNES DOS SANTOS, Alessandra *et al.* Oxidative Stress in Methylmercury-Induced Cell Toxicity. **Toxics**, v. 6, n. 3, p. 47, 9 ago. 2018.

ARRIFANO, Gabriela P. *et al.* Living in the Southern Hemisphere: Metabolic Syndrome and Its Components in Amazonian Riverine Populations. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 16, p. 3630, 17 ago. 2021.

ARRIFANO, Gabriela P. F. *et al.* Genetic susceptibility to neurodegeneration in Amazon: Apolipoprotein e genotyping in vulnerable populations exposed to mercury. **Frontiers in Genetics**, v. 9, 2018.

BERNTSSON, Elina *et al.* Mercury Ion Binding to Apolipoprotein E Variants ApoE2, ApoE3, and ApoE4: Similar Binding Affinities but Different Structure Induction Effects. **ACS Omega**, v. 7, n. 33, p. 28924–28931, 23 ago. 2022.

BERZAS NEVADO, J. J. *et al.* **Mercury in the Tapajós River basin, Brazilian Amazon: A review.** **Environment International** Elsevier Ltd, , 2010.

BIRDSALL, Robert E. *et al.* Effects of Lead and Mercury on the Blood Proteome of Children. **Journal of Proteome Research**, v. 9, n. 9, p. 4443–4453, 3 set. 2010.

BJØRKLUND, Geir *et al.* The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. **Environmental Research**, v. 159, p. 545–554, 1 nov. 2017.

BRANDES, Nicolas; SCHMITT, Sebastian; JAKOB, Ursula. **Thiol-Based Redox Switches in Eukaryotic Proteins.** [S.l.: S.n.].

BRIDGES, Christy C.; ZALUPS, Rudolfs K. **Mechanisms involved in the transport of mercuric ions in target tissues.** **Archives of Toxicology** Springer Verlag, , 1 jan. 2017.

CAITO, Samuel W.; ZHANG, Yaofang; ASCHNER, Michael. Involvement of AAT transporters in methylmercury toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 435, n. 4, p. 546–550, 14 jun. 2013.

CECCATELLI, S.; DARÉ, E.; MOORS, M. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 188, n. 2, p. 301–308, 5 nov. 2010.

CHANG, Jason Y. Methylmercury-induced IL-6 release requires phospholipase C activities. **Neuroscience Letters**, v. 496, n. 3, p. 152–156, 8 jun. 2011.

CHEN, Jianglei; LI, Qianqian; WANG, Jianjun. Topology of human apolipoprotein E3 uniquely regulates its diverse biological functions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 36, p. 14813–14818, 6 set. 2011.

CLARKSON, Thomas W.; MAGOS, Laszlo. **The toxicology of mercury and its chemical compounds**. **Critical Reviews in Toxicology**, 1 set. 2006a.

CLARKSON, Thomas W.; MAGOS, Laszlo. **The toxicology of mercury and its chemical compounds**. **Critical Reviews in Toxicology**, 1 set. 2006b.

CLARKSON, Thomas W.; MAGOS, Laszlo; MYERS, Gary J. The Toxicology of Mercury — Current Exposures and Clinical Manifestations. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 18, p. 1731–1737, 30 out. 2003.

CLARKSON, Thomas W.; VYAS, Jayesh B.; BALLATORI, Nazzareno. Mechanisms of mercury disposition in the body. *In*: out. 2007a.

CLARKSON, Thomas W.; VYAS, Jayesh B.; BALLATORI, Nazzareno. Mechanisms of mercury disposition in the body. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 50, n. 10, p. 757–764, 12 out. 2007b.

CONTRERAS-GARCÍA, Julia *et al.* NCIPLOT: A Program for Plotting Noncovalent Interaction Regions. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 3, p. 625–632, 8 mar. 2011.

CRESPO-LÓPEZ, M. E. *et al.* **Mercurio y neurotoxicidad** **REV NEUROL**. [S.l.: S.n.].

CRESPO-LÓPEZ, Maria Elena *et al.* **Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms**. **Pharmacological Research**, out. 2009a.

CRESPO-LÓPEZ, Maria Elena *et al.* Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms. **Pharmacological Research**, v. 60, n. 4, p. 212–220, out. 2009b.

CRESPO-LOPEZ, María Elena *et al.* Is Low Non-Lethal Concentration of Methylmercury Really Safe? A Report on Genotoxicity with Delayed Cell Proliferation. **PLOS ONE**, v. 11, n. 9, p. e0162822, 13 set. 2016.

CRESPO-LOPEZ, Maria Elena. Role for apolipoprotein E in neurodegeneration and mercury intoxication. **Frontiers in Bioscience**, v. 10, n. 1, p. 819, 2018.

CRESPO-LOPEZ, Maria Elena *et al.* Revisiting Genetic Influence on Mercury Exposure and Intoxication in Humans: A Scoping Review. **Toxics**, v. 11, n. 12, p. 967, 29 nov. 2023.

DHANA, Klodian *et al.* Impact of the Apolipoprotein E ϵ 4 Allele on the Relationship Between Healthy Lifestyle and Cognitive Decline: A Population-Based Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 190, n. 7, p. 1225–1233, 1 jul. 2021.

EVERS, David C. *et al.* Evaluating the effectiveness of the Minamata Convention on Mercury: Principles and recommendations for next steps. **Science of The Total Environment**, v. 569–570, p. 888–903, 1 nov. 2016.

FARINA, Marcelo; ASCHNER, Michael; ROCHA, João B. T. Oxidative stress in MeHg-induced neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 256, n. 3, p. 405–417, 1 nov. 2011.

FARINA, Marcelo; ROCHA, João B. T.; ASCHNER, Michael. Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity: Evidence from experimental studies. **Life Sciences**, v. 89, n. 15–16, p. 555–563, out. 2011a.

FARINA, Marcelo; ROCHA, João B. T.; ASCHNER, Michael. Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity: Evidence from experimental studies. **Life Sciences**, v. 89, n. 15–16, p. 555–563, 10 out. 2011b.

FOX, Molly. ‘Evolutionary medicine’ perspectives on Alzheimer’s Disease: Review and new directions. **Ageing Research Reviews**, v. 47, p. 140–148, nov. 2018.

FRIEDEN, Carl; GARAI, Kanchan. Structural differences between apoE3 and apoE4 may be useful in developing therapeutic agents for Alzheimer’s disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 23, p. 8913–8918, 5 jun. 2012.

FRISCH, Michael J.; POPLE, John A.; BINKLEY, J. Stephen. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. **The Journal of Chemical Physics**, v. 80, n. 7, p. 3265–3269, 1 abr. 1984a.

FRISCH, Michael J.; POPLE, John A.; BINKLEY, J. Stephen. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. **The Journal of Chemical Physics**, v. 80, n. 7, p. 3265–3269, 1 abr. 1984b.

GASMI, A. *et al.* **Toxic Metals Exposure and APOE4 Gene Variant in Cognitive Decline Disorders. Archives of Razi Institute** Razi Vaccine and Serum Research Institute, , 1 jan. 2022a.

GASMI, A. *et al.* Toxic Metals Exposure and APOE4 Gene Variant in Cognitive Decline Disorders. **Archives of Razi Institute**, v. 77, n. 1, p. 1–10, fev. 2022b.

GIBB, Herman *et al.* World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of four foodborne chemical toxins, 2010: A data synthesis. **F1000Research**, v. 4, 2015.

GOCHFELD, Michael. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, n. 1, p. 174–179, 1 set. 2003.

GODFREY, Michael E.; WOJCIK, Damian P.; KRONE, Cheryl A. Apolipoprotein E genotyping as a potential biomarker for mercury neurotoxicity. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 5, n. 3, p. 189–195, 24 jul. 2003a.

GODFREY, Michael E.; WOJCIK, Damian P.; KRONE, Cheryl A. Apolipoprotein E genotyping as a potential biomarker for mercury neurotoxicity. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 5, n. 3, p. 189–195, 24 jul. 2003b.

GUZZI, Gian Paolo; LA PORTA, Caterina A. M. Molecular mechanisms triggered by mercury. **Toxicology**, v. 244, n. 1, p. 1–12, 3 fev. 2008.

HANWELL, Marcus D. *et al.* Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, n. 1, p. 17, 13 dez. 2012.

HATTERS, Danny M.; PETERS-LIBEU, Clare A.; WEISGRABER, Karl H. Apolipoprotein E structure: insights into function. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 31, n. 8, p. 445–454, ago. 2006.

HAY, P. Jeffrey; WADT, Willard R. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. **The Journal of Chemical Physics**, v. 82, n. 1, p. 270–283, 1 jan. 1985.

HAYBAR, Habib *et al.* **Endothelial Cells: From Dysfunction Mechanism to Pharmacological Effect in Cardiovascular Disease. Cardiovascular Toxicology** Humana Press Inc., , 15 fev. 2019.

HONG, Young-Seoub; KIM, Yu-Mi; LEE, Kyung-Eun. Methylmercury Exposure and Health Effects. **Journal of Preventive Medicine & Public Health**, v. 45, n. 6, p. 353–363, 29 nov. 2012.

HOUSTON, Mark C. Role of Mercury Toxicity in Hypertension, Cardiovascular Disease, and Stroke. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 13, n. 8, p. 621–627, 11 ago. 2011.

HUANG, Yadong; MAHLEY, Robert W. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. **Neurobiology of Disease**, v. 72, n. Part A, p. 3–12, 1 dez. 2014.

HUMPHREY, William; DALKE, Andrew; SCHULTEN, Klaus. **VMD: Visual Molecular Dynamics**. [S.l.: S.n.].

HUSAIN, Mohammed Amir; LAURENT, Benoit; PLOURDE, Mélanie. APOE and Alzheimer's Disease: From Lipid Transport to Physiopathology and Therapeutics. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, 17 fev. 2021a.

HUSAIN, Mohammed Amir; LAURENT, Benoit; PLOURDE, Mélanie. APOE and Alzheimer's Disease: From Lipid Transport to Physiopathology and Therapeutics. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, 17 fev. 2021b.

JOHNSON, Erin R. *et al.* Revealing Noncovalent Interactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 18, p. 6498–6506, 12 maio 2010.

KARAGAS, Margaret R. *et al.* Evidence on the Human Health Effects of Low-Level Methylmercury Exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 6, p. 799–806, jun. 2012.

KIM, Sang Hyun; JOHNSON, Victor J.; SHARMA, Raghubir P. Oral exposure to inorganic mercury alters T lymphocyte phenotypes and cytokine expression in BALB/c mice. **Archives of Toxicology**, v. 77, n. 11, p. 613–620, nov. 2003.

KIRCHNER, Kevin *et al.* Detrimental Effects of ApoE ϵ 4 on Blood–Brain Barrier Integrity and Their Potential Implications on the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Cells**, v. 12, n. 21, p. 2512, 24 out. 2023.

KUMAR, Vinay *et al.* A Retrospection on Mercury Contamination, Bioaccumulation, and Toxicity in Diverse Environments: Current Insights and Future Prospects. **Sustainability**, v. 15, n. 18, p. 13292, 5 set. 2023.

LI, Ping; FENG, Xinbin; QIU, Guangle. **Methylmercury exposure and health effects from rice and fish consumption: A review.** *International Journal of Environmental Research and Public Health* MDPI, , 2010.

LLOP, Sabrina; BALLESTER, Ferran; BROBERG, Karin. Effect of Gene-Mercury Interactions on Mercury Toxicokinetics and Neurotoxicity. **Current Environmental Health Reports**, v. 2, n. 2, p. 179–194, 3 jun. 2015.

LOPES-ARAÚJO, Amanda *et al.* Hair mercury is associated with dyslipidemia and cardiovascular risk: An anthropometric, biochemical and genetic cross-sectional study of Amazonian vulnerable populations. **Environmental Research**, v. 229, p. 115971, 15 jul. 2023.

LU, Tian. A comprehensive electron wavefunction analysis toolbox for chemists, Multiwfn. **The Journal of Chemical Physics**, v. 161, n. 8, 28 ago. 2024.

LU, Tian; CHEN, Feiwu. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 580–592, 15 fev. 2012.

MAHLEY, Robert W.; HUANG, Yadong. **Apolipoprotein E Sets the Stage: Response to Injury Triggers Neuropathology.** *Neuron*, 6 dez. 2012.

MAHLEY, Robert W.; WEISGRABER, Karl H.; HUANG, Yadong. Apolipoprotein E: structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. SUPPL., p. S183–S188, 1 abr. 2009.

MORI, Nobuhiro *et al.* Comparison of in vivo with in vitro pharmacokinetics of mercury between methylmercury chloride and methylmercury cysteine using rats and Caco2 cells. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 4, p. 628–636, nov. 2012.

MORRIS, Martha Clare *et al.* Association of Seafood Consumption, Brain Mercury Level, and *APOE* $\epsilon 4$ Status With Brain Neuropathology in Older Adults. **JAMA**, v. 315, n. 5, p. 489, 2 fev. 2016a.

MORRIS, Martha Clare *et al.* Association of Seafood Consumption, Brain Mercury Level, and *APOE* $\epsilon 4$ Status With Brain Neuropathology in Older Adults. **JAMA**, v. 315, n. 5, p. 489, 2 fev. 2016b.

MUTTER, Joachim; NAUMANN, Johannes; GUETHLIN, Corina. **Comments on the article “The toxicology of mercury and its chemical compounds” by Clarkson and Magos (2006).** *Critical Reviews in Toxicology*, jul. 2007.

NEU, Scott C. *et al.* Apolipoprotein E Genotype and Sex Risk Factors for Alzheimer Disease. **JAMA Neurology**, v. 74, n. 10, p. 1178, 1 out. 2017.

NG, Sharon *et al.* Mercury, APOE, and children's neurodevelopment. **NeuroToxicology**, v. 37, p. 85–92, 1 jul. 2013.

NG, Sharon *et al.* Mercury, APOE, and child behavior. **Chemosphere**, v. 120, p. 123–130, 1 fev. 2015.

NOGARA, Pablo A. *et al.* Methylmercury's chemistry: From the environment to the mammalian brain. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1863, n. 12, p. 129284, 1 dez. 2019.

NORDBERG, Gunnar F.; NORDBERG, Monica; COSTA, Max. Toxicology of metals: Overview, definitions, concepts, and trends. **Handbook on the Toxicology of Metals: Fifth Edition**, v. 1, p. 1–14, 1 jan. 2022.

OMANWAR, Swati; FAHIM, M. Mercury Exposure and Endothelial Dysfunction: An Interplay between Nitric Oxide and Oxidative Stress. **International Journal of Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 300–307, 8 jul. 2015.

PADURARU, Emanuela *et al.* Comprehensive Review Regarding Mercury Poisoning and Its Complex Involvement in Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 1992, 11 fev. 2022.

PALIR, Neža *et al.* ALAD and APOE polymorphisms are associated with lead and mercury levels in Italian pregnant women and their newborns with adequate nutritional status of zinc and selenium. **Environmental Research**, v. 220, p. 115226, mar. 2023.

PENDERGRASS, J. C. ,. and Haley, B. E. Mercury-EDTA complex specifically blocks brain beta-tubulin-gtp interactions: similarity to observations in Alzheimer's disease. status quo and perspective of Amalgam and other dental materials. **Proceedings of the International Symposium**, p. 98–105, 1995.

PETTERSEN, Eric F. *et al.* UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, out. 2004.

PINHEIRO, M. C. N. *et al.* Mercury pollution and childhood in Amazon riverside villages. **Environment International**, v. 33, n. 1, p. 56–61, 2007.

RAFAJ, P. *et al.* Scenarios of global mercury emissions from anthropogenic sources. **Atmospheric Environment**, v. 79, p. 472–479, 1 nov. 2013.

RAULIN, Ana-Caroline *et al.* ApoE in Alzheimer's disease: pathophysiology and therapeutic strategies. **Molecular Neurodegeneration**, v. 17, n. 1, p. 72, 8 nov. 2022.

ŘEZÁČ, Jan; HOBZA, Pavel. Advanced Corrections of Hydrogen Bonding and Dispersion for Semiempirical Quantum Mechanical Methods. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 1, p. 141–151, 10 jan. 2012.

ROQUE, Cássia R. *et al.* Methylmercury chronic exposure affects the expression of DNA single-strand break repair genes, induces oxidative stress, and chromosomal abnormalities in young dyslipidemic APOE knockout mice. **Toxicology**, v. 464, p. 152992, dez. 2021.

RUPA, Sharmin Akther *et al.* Interaction of mercury species with proteins: towards possible mechanism of mercurial toxicology. **Toxicology Research**, v. 12, n. 3, p. 355–368, 28 jun. 2023.

SANTOS-SACRAMENTO, Leticia *et al.* Human neurotoxicity of mercury in the Amazon: A scoping review with insights and critical considerations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111686, 15 jan. 2021.

SILVA-PEREIRA, L. C. *et al.* **Mercury genotoxicity on human lymphocyte cultures** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. [S.l.: S.n.].

SINGH, P. P.; SINGH, M.; MASTANA, S. S. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK. **Annals of Human Biology**, v. 33, n. 3, p. 279–308, 9 jan. 2006.

SNOJ TRATNIK, Janja *et al.* Prenatal mercury exposure, neurodevelopment and apolipoprotein E genetic polymorphism. **Environmental Research**, v. 152, p. 375–385, 1 jan. 2017a.

SNOJ TRATNIK, Janja *et al.* Prenatal mercury exposure, neurodevelopment and apolipoprotein E genetic polymorphism. **Environmental Research**, v. 152, p. 375–385, 1 jan. 2017b.

STEPHENS, P. J. *et al.* Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623–11627, 1 nov. 1994.

STEWART, James J. P. **MOPAC2016. Colorado Springs: Stewart Computational Chemistry, 2016.** , 2016.

STREETS, David G. *et al.* Global and regional trends in mercury emissions and concentrations, 2010–2015. **Atmospheric Environment**, v. 201, p. 417–427, 15 mar. 2019.

SUN, Ruoyi *et al.* Apolipoprotein E Polymorphisms and Parkinson Disease With or Without Dementia: A Meta-Analysis Including 6453 Participants. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v. 32, n. 1, p. 3–15, 9 jan. 2019.

SUNDSETH, Kyrre *et al.* **Global sources and pathways of mercury in the context of human health.** **International Journal of Environmental Research and Public Health** MDPI, , 22 jan. 2017.

TAKAHASHI, Tetsuya; SHIMOHATA, Takayoshi. Vascular dysfunction induced by mercury exposure. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 10, 2 maio 2019.

TAUX, Kira; KRAUS, Thomas; KAIFIE, Andrea. Mercury Exposure and Its Health Effects in Workers in the Artisanal and Small-Scale Gold Mining (ASGM) Sector—A Systematic Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 4, p. 2081, 13 fev. 2022.

UNOKI, Takamitsu *et al.* Molecular Pathways Associated With Methylmercury-Induced Nrf2 Modulation. **Frontiers in Genetics**, v. 9, 12 set. 2018.

VÁZQUEZ, M.; VÉLEZ, D.; DEVESA, V. In vitro evaluation of inorganic mercury and methylmercury effects on the intestinal epithelium permeability. **Food and Chemical Toxicology**, v. 74, p. 349–359, 1 dez. 2014.

VITEK, Michael P.; BROWN, Candice M.; COLTON, Carol A. APOE genotype-specific differences in the innate immune response. **Neurobiology of Aging**, v. 30, n. 9, p. 1350–1360, 1 set. 2009.

WARD, Darren M.; NISLOW, Keith H.; FOLT, Carol L. **Bioaccumulation syndrome: Identifying factors that make some stream food webs prone to elevated mercury bioaccumulation.** **Annals of the New York Academy of Sciences** Blackwell Publishing Inc., , 2010.

WIGGERS, Giulia Alessandra *et al.* Cerebrovascular endothelial dysfunction induced by mercury exposure at low concentrations. **NeuroToxicology**, v. 53, p. 282–289, 1 mar. 2016.

WOJCIK, Damian P. *et al.* **Mercury toxicity presenting as chronic fatigue, memory impairment and depression: Diagnosis, treatment, susceptibility, and outcomes**

in a New Zealand general practice setting (1994-2006)*Neuroendocrinology Letters*. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <www.nel.edu>.

WOODS, James S. *et al.* Genetic polymorphisms affecting susceptibility to mercury neurotoxicity in children: Summary findings from the Casa Pia Children's Amalgam Clinical Trial. **NeuroToxicology**, v. 44, p. 288–302, 1 set. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 101: Methylmercury**. Geneva, Switzerland: [S.n.].

WU, Long; ZHANG, Xin; ZHAO, Liqin. Human ApoE Isoforms Differentially Modulate Brain Glucose and Ketone Body Metabolism: Implications for Alzheimer's Disease Risk Reduction and Early Intervention. **The Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 30, p. 6665–6681, 25 jul. 2018.

WONG, Damian P. *et al.* **Mercury toxicity presenting as chronic fatigue, memory impairment and depression: Diagnosis, treatment, susceptibility, and outcomes in a New Zealand general practice setting (1994-2006)***Neuroendocrinology Letters*. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <www.nel.edu>.

XU, He; FINKELSTEIN, David I.; ADLARD, Paul A. Interactions of metals and Apolipoprotein E in Alzheimer's disease. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 6, p. 121, 2014a.

XU, He; FINKELSTEIN, David I.; ADLARD, Paul A. Interactions of metals and Apolipoprotein E in Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, 12 jun. 2014b.

XU, He; FINKELSTEIN, David I.; ADLARD, Paul A. Interactions of metals and Apolipoprotein E in Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, 12 jun. 2014c.

YAMAZAKI, Yu *et al.* ApoE (Apolipoprotein E) in Brain Pericytes Regulates Endothelial Function in an Isoform-Dependent Manner by Modulating Basement Membrane Components. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 40, n. 1, p. 128–144, jan. 2020.

YANG, Lixin *et al.* **Toxicity of mercury: Molecular evidence**. **Chemosphere** Elsevier Ltd, , 1 abr. 2020.

YIN, Zhaobao *et al.* The methylmercury- <sc>L</sc>-cysteine conjugate is a substrate for the L-type large neutral amino acid transporter. **Journal of Neurochemistry**, v. 107, n. 4, p. 1083–1090, 21 nov. 2008.

ZHANG, Yonghong *et al.* A Monomeric, Biologically Active, Full-Length Human Apolipoprotein E. **Biochemistry**, v. 46, n. 37, p. 10722–10732, 1 set. 2007.

ZHONG, Ning; WEISGRABER, Karl H. Understanding the Association of Apolipoprotein E4 with Alzheimer Disease: Clues from Its Structure. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 10, p. 6027–6031, mar. 2009.

ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO EM REVISTA CIENTÍFICA



OPEN ACCESS

EDITED BY

Fernando Barbosa Jr,
University of São Paulo, Brazil

REVIEWED BY

Flora Marasilis,
Federal University of São Paulo, Brazil
Ligia Watanabe,
University of São Paulo, Brazil

*CORRESPONDENCE

Reinaldo B. Oriá,
reinaldo70.oria@gmail.com

RECEIVED 11 February 2025

ACCEPTED 25 April 2025

PUBLISHED 08 May 2025

CITATION

Carvalho CGM, Da Costa PM, Souza LMR,
Monteiro VKF, Alvarez-leite JL,
Crespo-Lopez ME and Oriá RB (2025) Raising
awareness of riverine populations in the
Brazilian Amazon about MeHg intoxication in
APOE4 carriers: cardiovascular risk and
potential benefit of native selenium diets.
Front. Toxicol. 7:1571658.
doi: 10.3389/ftox.2025.1571658

COPYRIGHT

© 2025 Carvalho, Da Costa, Souza, Monteiro,
Alvarez-leite, Crespo-Lopez and Oriá. This is an
open-access article distributed under the terms
of the [Creative Commons Attribution License](#)
(CC BY). The use, distribution or reproduction in
other forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in this
journal is cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Raising awareness of riverine populations in the Brazilian Amazon about MeHg intoxication in APOE4 carriers: cardiovascular risk and potential benefit of native selenium diets

Camila G. M. Carvalho¹, Patrícia Marçal Da Costa¹,
Luana M. Rocha Souza¹, Vitória K. Félix Monteiro¹,
Jacqueline I. Alvarez-leite², Maria Elena Crespo-Lopez³ and
Reinaldo B. Oriá^{1*}

¹Laboratory of the Biology of Tissue Healing, Ontogeny and Nutrition Biomedicine Center, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil, ²Laboratory of Atherosclerosis and Nutritional Biochemistry, Department of Biochemistry and Immunology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ³Laboratory of Molecular Pharmacology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, Brazil

KEYWORDS

methylmercury, apolipoprotein E4, metabolic syndrome, obesity, selenium, antioxidants, DIETS

Introduction

The rapid expansion of illegal gold mining in the Amazon has caused severe social and environmental issues, particularly mercury (Hg) contamination, threatening biodiversity and the health of local communities (Domingues et al., 2024). Amazonian riverside populations have historically been exposed to chronic methylmercury (MeHg) levels due to ingestion of contaminated fish from water reservoirs (Crespo-Lopez et al., 2021).

Anthropogenic activities in the Amazon have driven MeHg, a highly toxic organic form of Hg, to bioaccumulate in the trophic chain, mainly in fish used as subsistence food in riverside communities (Nyholt et al., 2022), raising public health concerns, especially for vulnerable populations. The Amazonian riverside populations are isolated communities far from urban areas, with poor health service access. They strongly rely on the river to sustain fishing and obtain dietary proteins.

The awareness that MeHg has multisystemic effects, apart from its well-known neurological toxicity, is of utmost importance since accumulating evidence points to chronic MeHg intoxication as a culprit of increasing cardiovascular risk in preclinical and clinical studies (Ginsberg et al., 2014; Lopes-Araújo et al., 2023). MeHg exposure significantly increases the risk of fatal and non-fatal cardiovascular complications, with tipping points as low as 1 µg/g hair Hg (Hu et al., 2021a). MeHg deleterious effects on cardiovascular and atherosclerotic risk may be aggravated by the obesity epidemics occurring even in the Amazon region (Silva et al., 2021). A recent increase in non-communicable diseases (NCDs) like hypertension, diabetes, and obesity among Amazonian riverine populations, comparable to urban Brazil, has drawn academic attention. Arrifano et al. (2018) linked the APOE4 allele to hypertension and altered fasting blood glucose in these communities (Arrifano et al., 2018a).

ANEXO B - CAPÍTULO DE LIVRO ACEITO E EM PROCESSO DE PUBLICAÇÃO**1 DOCKING AND MOLECULAR INTERACTION OF APOLIPOPROTEIN E
2 WITH PLASMA LIPOPROTEINS**

3

4 Vitória Karoline F. Monteiro¹, Marcus Vinicius F. Rodrigues³, Sérgio A. de Alencar²,
5 Norberto de Kássio V. Monteiro³

6

7 1. Laboratory of the Biology of Tissue Healing, Ontogeny and Nutrition, Department of
8 Morphology and Institute of Biomedicine, School of Medicine, Federal University of
9 Ceara, Fortaleza-CE, Brazil10 2. Graduate Program in Genomic Sciences and Biotechnology, Catholic University of
11 Brasilia, Brasilia-GO, Brazil12 3. Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry, Federal University of
13 Ceara, Fortaleza-CE, Brazil.**SPRINGER NATURE Reference****LIVING
EDITION** **Apolipoprotein E** Springer

ANEXO C - ARTIGO SUBMETIDO EM REVISTA CIENTÍFICA E EM FASE DE REVISÃO

1 **The antithrombotic potential of sulfated-polysaccharides from red seaweed *Hypnea***
2 ***musciformis* (Wulfen) J.V. Lamouroux: an *in vitro*, *in silico* and *in vivo* study**

3

4 Caroline L. Peixoto¹, Vitória Karoline F. Monteiro¹, José Osmar S. Júnior³, George Meredite
5 C. de Castro⁴, Norberto de Kássio V. Monteiro³, Renato de Azevedo Moreira⁴, Aline Maria
6 Araujo Martins⁵, Ludmila Belayev², Reinaldo B. Oriá¹ (Corresponding author)

7

8 1. Laboratory of the Biology of Tissue Healing, Ontogeny and Nutrition, Department of Morphology and
9 Institute of Biomedicine, School of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza-CE, Brazil

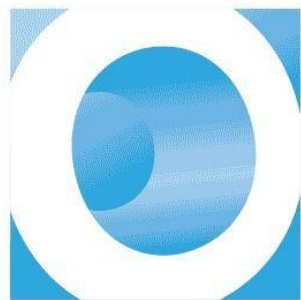
10 2. Neuroscience Center of Excellence, School of Medicine, Louisiana State University Health Sciences
11 Center, New Orleans, LA, USA.

12 3. Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry, Federal University of Ceara, Fortaleza-
13 CE, Brazil.

14 4. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Ceara, Fortaleza-CE,
15 Brazil.

16 5. The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA

INTRODUCING



ACS
OMEGA

OPEN ACCESS.
RAPID PUBLICATION.
GLOBAL REACH.

pubs.acs.org/acsomega



ACS Publications
Most Trusted. Most Cited. Most Read.